

**ORIENTIERENDE UNTERSUCHUNGEN
ÜBER ENTWICKLUNG,
IMMUNGLOBULINKLASSE
UND AUSLÖSEMECHANISMUS DER
PRÄFORMIERTEN NATÜRLICHEN
ANTI-KÖRPER BEI MENSCH
UND HÖHEREN SÄUGETIEREN**

Manfred Hingerle

1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DEM INSTITUT FÜR CHIRURGISCHE FORSCHUNG
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. W. Brendel)
AN DER CHIRURGISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
(Direktor: Prof. Dr. G. Heberer)

ORIENTIERENDE UNTERSUCHUNGEN ÜBER ENTWICKLUNG, IMMUNGLOBULINKLASSE
UND AUSLÖSEMECHANISMUS DER PRÄFORMIERTEN NATÜRLICHEN ANTIKÖRPER
BEI MENSCH UND HÖHEREN SÄUGERN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Manfred Hingerle
aus
München

München 1974

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

1. Berichterstatter: Prof. Dr.Dr.h.c. W. Brendel

2. Berichterstatter: PD Dr. S. Thierfelder

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der Promotion: 23. Dezember 1974



Meiner Frau ,
meinen Eltern und Schwiegereltern
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. E I N L E I T U N G	1
Abkürzungen	5
Erläuterungen und Definitionen	6
B. M E T H O D I K	9
1. Versuchsaufbau	9
2. Tiermaterial, Haltung, Impfung und Serumgewinnung	11
2.1. Allgemeines	11
2.1.1. Haltung und Zucht keimfreier Tiere und SPF Tiere ...	11
2.1.2. Antigenherstellung und Immunisierungstechnik	13
2.1.3. Futterzubereitungen bei Hunden und Ratten	14
2.1.4. Serum- und Milchgewinnung	14
2.2. Übersichtstabellen:Tierrasse, Haltung, Immunisierung	15
2.2.1. Hunde	15
2.2.2. Schweine	16
2.2.3. Ratten	16
2.2.4. Kaninchen	17
3. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials	17
3.1. Lagerung des Serums	17
3.2. Kartonelektrophorese	17
3.3. Auftrennung über DEAE, Sephadex und Biogel	18
3.4. Behandlung mit Antiseren	19
3.5. Behandlung mit 2-Merceptoethanol	19
3.6. Absorption der PNAK gnotobiotischer Tiere mit kultivierten Kontaminationskeimen	19
4. Testmethoden	19
4.1. Hämagglutinations-Test	19
4.2. Hämolysin-Test	20
4.3. Duchterlony-Test	21

	Seite
5. Berechnungen	21
5.1. Umrechnung des Verdünnungseffektes	21
5.2. Statistische Berechnungen	22
C. E R G E B N I S S E	23
1. Das Auftreten der hämagglutinierenden PNAK im Laufe des Lebens und ihre Übertragung über Milch und Plazenta	23
1.1. Entwicklung der PNAK beim Menschen	23
1.1.1. PNAK im Serum von menschlichen Neugeborenen	23
1.1.2. PNAK in der Milch von stillenden Müttern	24
1.1.3. Durchschnittswerte der PNAK Titer im Serum von Neugeborenen	25
1.2. Entwicklung der PNAK beim Hund	26
1.3. Entwicklung der PNAK beim Schwein	30
1.4. Entwicklung der PNAK beim Rind	34
1.5. Entwicklung der PNAK beim Kaninchen	35
1.6. Verwandtschaftsbeziehungen	40
2. Immunglobulinklasse der hämagglutinierenden PNAK	40
2.1. Menschliches Serum	40
2.1.1. Serum von Erwachsenen	40
2.1.2. Serum von Neugeborenen	44
2.1.3. Milch von stillenden Müttern	47
2.2. Hundeserum	51
2.3. Schweineserum	51
3. Einfluß des Futters auf die Bildung der PNAK	52
3.1. Definierte Fleischfütterung	52
3.1.1. Hunde	52
3.1.2. Ratten	57
3.2. Antigenfreies Futter	58
3.3. Wild lebende Wanderratten	58
3.4. Einfluß der Säugezeit auf die Entwicklung der PNAK	59

	Seite
4. Keimfreie Tiere	60
4.1. Keimfreie Hunde	60
4.1.1. Ergebnisse	60
4.1.2. Berechnung der Signifikanz	67
4.2. Keimfreie Schweine	68
4.3. Weitere gnotobiotische Tiere	69
4.4. Absorption der PNAK zweier keimfreier Beagles am perfundierten Organ (Hämoperfusion-Schweineniere).	70
4.5. Absorption der PNAK mit den bei gnotobiotischen Beagles gefundenen spezifischen Bakterien	71
5. Einfluß der Immunisierung mit Bakterien	71
5.1. E. coli O 86	72
5.1.1. Immunisierung 4 Wochen alter Kaninchen	72
5.1.2. Immunisierung 12 Wochen alter Kaninchen	74
5.1.3. Immunisierung erwachsener Kaninchen	75
5.2. Boosterung mit E. coli O 86	80
5.3. Impfung mit Freundschem Adjuvans	81
5.4. Immunisierung mit 129 verschiedenen O-Antigenen von E. coli	81
5.5. Höhe der PNAK Titer als Indikator für die Immunlage	88
5.6. Typische Titterschwankungen der PNAK	90
5.7. Entwicklung der PNAK bei "keimfreien" Hunden, auf- gegliedert nach Familien bzw. Kontamination	91
D. D I S K U S S I O N und Literaturübersicht	94
1. Diskussion der Methode	95
1.1. Auswahlkriterien	95
1.2. Testmethoden und Kontrolluntersuchungen	96
1.3. Auswertung	96
2. Diskussion der Ergebnisse	97
2.1. Entwicklung der PNAK im Laufe des Lebens	97
2.1.1. Diaplazentarer Transport	97

	Seite
2.1.2. Resorption aus dem Dottersack	98
2.1.3. Aufnahme der PNAK aus der Milch	98
2.1.4. Entwicklung der PNAK bei juvenilen Spezies.....	100
2.1.5. Verwandtschaftsbeziehungen	101
2.2. Immunglobulinklasse der PNAK	104
2.3. Auslösemechanismen der PNAK Produktion	107
2.3.1. Einfluß von Antigen im Futter	107
2.3.2. Keimfreie Tiere	111
2.3.3. Immunisierung mit Bakterien	117
2.3.4. Spezifität der PNAK	123
3. Diskussion verschiedener Hypothesen	125
3.1. Physiologie der PNAK Bildung	125
3.1.1. Ort der Entstehung	125
3.1.2. Weg des Antigens	125
3.1.3. Beteiligte Immunzellen	126
3.1.4. Dauer des Antigeneinflusses.....	127
3.1.5. Molekulares Geschehen	128
3.2. Biologische Bedeutung der PNAK	130
3.3. Mögliche Verlängerung der Überlebenszeiten von Organtransplantaten durch Depression der PNAK Titer	132
E. ZUSAMMENFASSUNG	136
F. LITERATUR	138

A. EINLEITUNG

Als präformierte natürliche Antikörper (PNAK) bezeichnet man solche Antikörper, die sich ohne vorherige aktive Immunisierung entwickelt haben. Sie sind bei jedem menschlichen und höheren tierischen Individuum zu finden. Etwas ungenauer werden sie als "Cross-Spezies-Antikörper" oder "Hetero-Antikörper" bezeichnet, da sie meist gegen ein Antigen fremder Organismen gerichtet sind. Sie sind zu unterscheiden von nicht natürlichen aber präformierten Antikörpern, die bei mehrfach transfundierten oder transplantierten Patienten oder bei multiparen Frauen gefunden werden, wo ein bestimmtes Antigen für die Produktion der spezifischen Antikörper verantwortlich gemacht werden kann.

Seit Ende des vorigen Jahrhunderts ist das Phänomen der präformierten natürlichen Antikörper bekannt und wurde zu verschiedenen Zeiten mehr oder weniger stark in den Vordergrund gestellt. Die um die Jahrhundertwende wichtigsten Arbeiten über PNAK waren die Untersuchungen Landsteiners über die Isoagglutinine des Menschen. Auch heute noch haben sie in dieser "Rolle" nichts an Bedeutung verloren.

Später schrieb man den PNAK als vielleicht wichtigste Aufgabe die Infektabwehr im frühen Lebensalter zu. So besitzen alle gesunden jungen Tiere, obwohl in den ersten Lebensspannen sicherlich nur mit relativ wenig verschiedenen Mikroben in Berührung gekommen, bereits präformierte natürliche Antikörper (Bakteriolysine und Agglutinine) gegen *S. paratyphi*, *Vibrio cholerae* oder *S. enteritidis* und viele andere Bakterien (20)!

Weiterhin fand man, daß die PNAK auch in Labortesten eine große, meist allerdings störende Rolle spielen. Erwähnt sei der lymphozytotoxische Test, bei dem das verwendete xenogene Komplement für die zu untersuchende Spezies auf PNAK vorgetestet werden muß oder der Plaque-forming-Test bei dem die PNAK einen sog. "background" bilden können.

Seit einiger Zeit gewinnt nun die Frage nach der Funktion der PNAK bei der Abstoßung transplantierten xenogener Organe immer mehr an Bedeutung. Es wird angenommen, daß sie hierbei als "Trigger" die hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion (HXAR) einleiten.

Ausschlaggebend für unsere Untersuchungen war die Beobachtung, daß xenogene Nieren die auf Hunde transplantiert werden, unterschiedlich lange Überlebenszeiten aufweisen, wobei ein grober Zusammenhang mit der Höhe der PNAK Titer zu erkennen ist (s.Tab.1).

Tabelle 1

Transplantatabstoßung xenogener Nieren in Abhängigkeit vom PNAK Titer bei Hunden:

SPENDER	ZYTOTOX. PNAK GEGEN LEBER	HÄMAGGL. PNAK GEGEN ERYTHR.	TRANSPLANTAT - ÜBERLEBENSZEIT
Fuchs	Ø	Ø	6 - 7 Tage
Katze	1 : 2 - 4	1 : 8	15 - 24 Std.
Schwein	1 : 32 - 64	1 : 32	15 - 25 Min.

HAMMER C., 2. Tagung der Gesellschaft für Immunologie, Wien 1970

Die Art und Heftigkeit der Abstoßungsreaktion scheint somit von der genetischen Disparität beider Spezies abzuhängen. Betrachtet man den Titer der PNAK im Serum des Empfängers gegen das Antigen des Spenders, so zeigt sich, daß die Schnelligkeit der Abstoßungsreaktion und die Höhe der PNAK Titer im umgekehrten Verhältnis zueinander stehen.

Diese Annahme wird durch Untersuchungen gestützt, bei denen die PNAK dem Spender entzogen wurden und damit eine hyperakute Abstoßung verzögert werden konnte (34).

Die gezielte Suche (103) nach dem Idealspender im Hinblick auf eine eventuelle Transplantation tierischer Organe auf den Menschen hat gezeigt, daß zumindest alle Säuger einschließlich des Menschen, PNAK aller Arten gegeneinander besitzen, wobei lediglich die Titerhöhen differieren.

Tiere einer zoologischen Familie besitzen keine PNAK gegeneinander. Erst innerhalb der zoologischen Ordnung treten niedrige PNAK Titer auf und neh-

men mit weiterer zoologischer Disparität zu. Eine Ausnahme machen die Isoagglutinine der Primaten. Die Spezies-Spezifität dieser Antikörper nimmt mit der Entfernung des Verwandtschaftsgrades der Tiere ab (17). Danach erscheint es möglich - ähnlich dem serologischen Nachweis mit Hilfe spezifischer Antisera (103) - auch über die Bestimmung der PNAK Titer eine begrenzte Aussage über die zoologische Verwandtschaft von Tieren machen zu können.

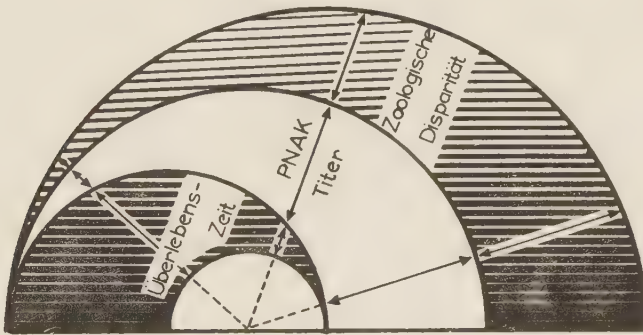


Abb. 1 Schematische Darstellung von Zusammenhängen zwischen PNAK Titer, Überlebenszeit xenogener Transplantate und zoologischer Disparität der Tiere

Diese Eigenschaften werfen folgende Fragenkomplexe auf:

1. Wann entstehen die PNAK und wie entwickeln sie sich im Laufe des Lebens ?
2. Welcher Immunglobulinklasse sind die PNAK zuzuordnen ?
3. Welche Auslösemechanismen der PNAK Produktion gibt es ?
4. Wie kann ihre Bildung beeinflusst oder verhindert werden ?

Mit vorliegender Arbeit sollte versucht werden, mögliche Antworten auf diese Fragen zu finden.

Abkürzungen

Ery	= Erythrozyt
H	= Hund (Hämagglutination mit Erythrozyten vom Hund)
Häm	= Hämagglutination
HXAR	= Hyperakute xenogene Abstoßungsreaktion
K	= Kaninchen (Hämagglutination mit Erythrozyten vom Kaninchen)
MB	= Mensch mit der Blutgruppe B (Hämagglutination mit Erythrozyten vom Mensch mit Blutgruppe B)
MO	= dto. mit Blutgruppe O
P	= Pferd (Hämagglutination mit Erythrozyten vom Pferd)
PNAK	= präformierte natürliche Antikörper - meist erweitert verwendet als Ausdruck für hämagglutinierende präformierte natürliche Antikörper
R	= Ratte (Hämagglutination mit Erythrozyten von der Ratte)
S	= Schwein (Hämagglutination mit Erythrozyten vom Schwein)

Tabellenquerspalten:

O	= Titerwerte bei Geburt
F	= Fetus
M	= Mutter
(M=1:4)=	PNAK Titer der Mutter

Tabellenlängsspalten:

1	drei verschiedene,
2	= nicht verwandte
3	Tiere
1a	drei verschiedene Tiere,
1b	= aber Geschwister aus
1c	demselben Wurf

Titerangaben:

2/4/8	= 1:2 / 1:4 / 1:8 etc.	1000	= zwei verschiedene Tiere
2+/8+	= 1: 2-4 / 1: 8-16 etc.	1000	
		1000	= dasselbe Tier
		"	

$\bar{x}$ 3,0	= Mittelwerte und Streuungen - wurden jedoch nicht aus den einzelnen geometrischen Titerangaben wie 1:4 + 1:8 + 1:16/3 errechnet, sondern aus den negativen Logarithmen der einzelnen Titer zur Basis 2, d.h. 1:4 + 1:8 + 1:16/3 = 2 + 3 + 4/3 = 3,0
s 1,0	
(4)6	= Hämagglutination mit verdünnten Seren - das Ergebnis (1:4) wurde dabei auf den theoretischen Titer (1:16) umgerechnet (s.Kap.B 5.1.)

Erläuterungen und Definitionen

Für das Verständnis wesentlicher Teile dieser Arbeit ist es notwendig, zwei Punkte, einmal die systematische Zuordnung und den Aufbau der Plazentarschranke des Menschen und der Versuchstiere, zum anderen die Definition von Gnotobioten, vorweg darzustellen.

Nachstehend die Definition keimfreier, gnotobiotischer und spezifiziert pathogenfreier Tiere (100, 110, 140).

Als Gnotobioten bezeichnet man :

- keimfreie Versuchstiere

Es sind dies Tiere, bei denen keine Mikroorganismen nachgewiesen werden können.

- definiert assoziierte Tiere

Hierbei handelt es sich um primär keimfreie Individuen, die später mit Reinkulturen einer (≥ Monobioten) oder mehrerer bekannten Arten (≥ Di- und Tribioten etc.) von Mikroorganismen assoziiert wurden. Der Ausdruck assoziiert hat sich in den letzten Jahren eingebürgert, da er eindeutig die künstliche Hinzufügung bezeichnet. Unter Kontamination wird dagegen die unbeabsichtigte Aufnahme von Mikroorganismen verstanden, wie sie dann erfolgt, wenn z. B. ein Isolator undicht geworden ist. Gnotobiotische Versuchstiere müssen streng isoliert gehalten werden.

Als spezifiziert pathogenfreie (SPF) Versuchstiere bezeichnet man :

- Tiere, die nachweislich frei sind von, für die jeweilige Spezies namentlich aufgeführten pathogenen Organismen. Über das Vorhandensein oder Fehlen sonstiger Organismen wird nichts ausgesagt.

Nachstehend eine Tabelle über systematische Zuordnung und Aufbau der Plazentarschranken (60) :

Tabelle 2

Übersicht über die Zugehörigkeit zu zoologischen Ordnungen und den Aufbau der Plazentarschranke:

ART	ORDNUNG	AUFBAU DER PLAZENTARSCHRANKE	A B C D
MENSCH	6. Primates	P. hämochorialis - es fehlt das mütterl. Endothel, mütterliches Blut zirkuliert in Zwischenräumen des Trophoblasten	- - + +
HUND	7. Carnivora	P. endotheliochorialis - Endometrium tief erodiert, Chorionepithel tritt in Verbindung mit dem Endothel der mütterl. Kapillaren	- + + +
SCHWEIN	9. Artiodactyla	P. epitheliochorialis - mütterliche und fetale Gewebeschichten sind nicht abgebaut	+ + + +
RIND	9. Artiodactyla	siehe Schwein	+ + + +
RATTE	17. Rodentia	P. hämoendothelialis - am weitesten abgebaute Plazentarschranke, die Trophoblastenschicht wird in den letzten Schwangerschaftsstadien sogar ganz reduziert	- - - -
KANINCHEN	18. Lagomorpha	siehe Ratte	- - - -

Legende:

A = mütterliches Epithel, B = mütterliches Endothel, C = fetales Endothel, D = Chorion

B. M E T H O D I K

1. Versuchsaufbau

In den folgenden Tabellen wird eine Übersicht darüber gegeben, mit welcher Methodik versucht wurde, die in der Einleitung aufgeworfenen Fragenkomplexe zu beantworten.

Tabelle 3

Verwendete Methoden bzw. Versuchsindividuen für die Beantwortung der Frage nach dem Zeitpunkt der Entstehung und der Immunglobulinklasse:

	ZEITPUNKT DER ENTSTEHUNG	IMMUNGLOBULINKLASSE
UNTERSUCHTE SPEZIES	a) Mensch b) Hund c) Schwein d) Rind e) Kaninchen	a) Mensch b) Hund c) Schwein
VERSUCHE ZUR MANIPULATION DER PNAK BILDUNG	a) Entzug von Kolostrum b) definierte Fütterung c) keimfreie Haltung	
UNTERSUCHTE SEREN VON	a) Feten b) Neugeborenen c) zugehörigen Müttern d) Muttermilch e) juvenilen Spezies versch. Altersstufen f) adulten Spezies	Fraktionierung der Seren über a) DEAE b) Sephadex c) Biogel Inkubation der Seren mit a) 2-Mercaptoäthanol b) spezifischen Antiseren
TESTMETHODEN	a) aktive Hämagglutination	a) aktive Hämagglutination b) Immunelektrophorese c) Ouchterlony-Test

Tabelle 4

Verwendete Methoden bzw. Versuchsindividuen für die Beantwortung der Frage nach Auslösemechanismus und Möglichkeiten einer PNAK Titer Beeinflussung:

	AUSLÖSEMECHANISMUS	MÖGLICHKEITEN DER BEEINFLUSSUNG
UNTERSUCHTE SPEZIES	a) Hund b) Katze c) Schwein d) Maus e) Ratte f) Kaninchen	a) Kaninchen
VERSUCHE ZUR MANIPULATION DER PNAK BILDUNG	a) defin. Fleischfüttrg. b) antigenfreies Futter c) verschieden lange Milchfütterung d) Untersuchung wilder Ratten e) SPF Haltung f) Keimfreihaltung g) Kontamination mit versch. Bakterien	- Immunisierung mit a) versch. Serotypen von <i>E. coli</i> b) Freundschem Adjuvans c) Boosterung der mit <i>E. coli</i> immunisierten Tiere
UNTERSUCHTE SEREN	a) Untersuchung der Seren juveniler Tiere vor dem erstmaligen Auftreten der PNAK bis zum Erreichen von Titerstufen adulter Tiere b) Untersuchung der Seren von Geschwister- und Kind-Eltern-Tieren	a) junge Tiere vor der ersten selbständigen Entwicklung von PNAK Titern b) 8 Wochen ältere Tiere c) adulte Tiere
TESTMETHODEN	a) aktive Hämagglutination b) Hämolysin-Test c) Ouchterlony-Test d) Bestimmung der kontaminierenden Keime	a) aktive Hämagglutination b) quantitative Titerbestimmung der gegen <i>E. coli</i> gerichteten spezifischen Antikörper

2. Tiermaterial, Haltung, Impfung und Serumgewinnung

2.1. Allgemeines

2.1.1. Haltung und Zucht keimfreier Tiere und SPF Tiere

2.1.1.1. Keimfreie Hunde^{*}

Trächtige Beagleshündinnen wurden unter sterilen Bedingungen via "sectio caesarea" und Hysterotomie (55,119) entbunden und in Isolatoren verbracht.

(1. Mutter = 6 Junge / 2. Mutter = 5 Junge / 3. Mutter = 8 Junge)

Die Ernährung der so gewonnenen, geburtsreifen, keimfreien Feten erfolgte durch Handfütterung mit konzentrierter, sterilisierter Rindermilch unter Zugabe von Vitaminen und Spurenelementen - Milchpulver (Uelzena^{**}) 1:3 in Leitungswasser, oder 7,5%iger Dosenmilch (Saliter^{**}). Alle 2 Wochen wurde 0,3 g Piperazin pro Kilogramm Körpergewicht beigegefüttert. Je nach Versuchsgruppe wurde ab der 6.-10. Woche auf Dosenfleisch (PAL^{**}) umgestellt. Am Ende der 10. bzw. 14. Woche wurden die Tiere zuerst in eine keimarme spezifizierte pathogenfreie und danach in eine normale Umwelt versetzt. Während der Haltung im Isolator wurde das Serum über Herzpunktion gewonnen und gleichzeitig entnommene Kotproben auf Keimfreiheit geprüft. Die absolut keimfreie Haltung gelang etwa bis zur 6. bzw. 8. Woche. Die von da ab bei den Tieren nachgewiesenen verschiedenen Mikroorganismen wurden isoliert, differenziert und zum Teil für Absorptionsversuche verwendet.

Mit Keimen kontaminierte Tiere entsprachen dann gemäß Definition Mono- Di- und Tribioten. Als Kontrolltiere dienten mit den keimfreien Tieren verwandte und unverwandte konventionelle Beagles, die in Gruppen zusammengefaßt wurden, außerdem auch die in anderen Versuchen verwendeten Dackel- und Schäferhund-Familien.

^{*} Die Tiere bzw. die Seren wurden uns freundlicherweise vom Institut für Versuchstierkunde, Berlin, zur Verfügung gestellt.

^{**} Handelsname

2.1.1.2. SPF Ferkel und keimfreie Ferkel*

Ferkel wurden nach der oben beschriebenen Methode (80) durch Kaiserschnitt geboren und in Isolatoren eingebracht (Futter in den ersten 2 Wochen: Konzentrierte Rindermilch mit 17,5% Trockenmasse, 7,5% Fett, Vitaminen und Spurenelementen).

Am Ende der 2. Woche wurden die Tiere aus dem Isolator entfernt und mit einem definierten apathogenen Stamm von *E. coli* assoziiert. Bis zum Alter von etwa 8 Wochen blieben die Schweine in keimarmen Ställen. Ab der 2. Woche wurden Altromin Pellets beigefüttert. Ein Tier wurde bis zur 6. Woche im Isolator gehalten und nur mit Milchkonzentraten gefüttert. Trotz peinlichst genauer Einhaltung der Gnotobiotik, konnte jedoch nicht verhindert werden, daß sich in der 6. Woche mehrere Bakterien im Kotabstrich fanden (C 4.2.).

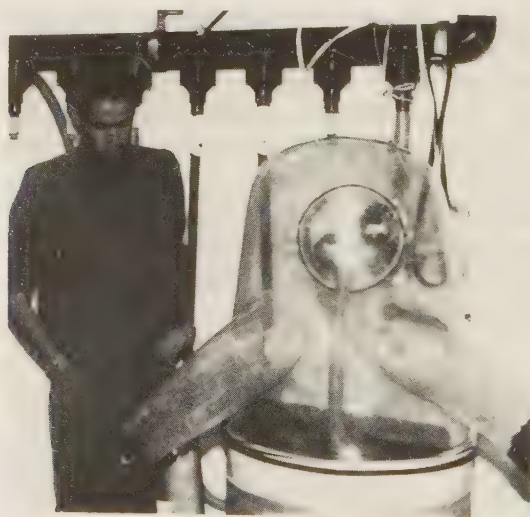


Abb. 2 Isolator für Ferkel bis 6 Wochen

* Die Ferkel bzw. Seren wurden uns freundlicherweise vom Institut für SPF Ferkelzucht, Marbach, zur Verfügung gestellt.

2.1.1.3. Sonstige SPF und keimfreie Tiere

Keimfreie - bzw. SPF Ratten* und Mäuse* unterschiedlicher Altersstufen (Alter: 8 Wochen und 1 Jahr) wurden aus bereits keimfreien Beständen entnommen.

Weiterhin wurde das Serum von drei keimfrei gehaltenen 3 Wochen bzw. 3 Monate alten Kaninchen**, das Serum von 4 SPF Kaninchen** im Alter von 6 Monaten und das Serum einer keimfreien Katze** im Alter von 9 Monaten untersucht.

2.1.2. Antigenherstellung und Immunisierungstechnik***

Standardstämme von E. coli des staatlichen Serum Instituts von Kopenhagen (International Echerichia Centre, Statens Serum Institut Kopenhagen, Prof. Dr. ØRSKOV) wurden auf Blood Agar Base (DIFCO***) ohne Blutzusatz gezüchtet, mit phys. NaCl-Lsg. abgeschwemmt, gewaschen und bei 100° C 1 Std. im Dampftopf abgetötet. Die Ausschwemmung wurde auf $3 - 4 \times 10^9$ Keime/ ml eingestellt und Kaninchen im Alter von 12 Wochen nach folgendem Immunisierungsschema (Schema I) subcutan injiziert:

1. Tag:	0,05 ml / kg Körpergew.	16. Tag:	0,40 ml / kg Körpergew.
6. "	0,10 ml / kg "	21. "	0,40 ml / kg "
11. "	0,20 ml / kg "		

Bei adulten Kaninchen wurde folgendes Immunisierungsschema (Schema II) angewandt:

1. Tag:	0,50 ml	je Tier
6. "	1,00 ml	" "
11. "	2,00 ml	" "

* Die Seren wurden von der Fa. Thomae, Biberach, zur Verfügung gestellt.

** Die Seren wurden aus dem Institut für Versuchstierkunde, Berlin, zur Verfügung gestellt.

*** Die Arbeiten erfolgten im Max von Pettenkofer Institut für Hygiene und Med. Mikrobiologie der Universität München..

Mit 22 Stämmen von E. coli, die nach Zufallstabelle ausgewählt worden waren, wurde die Immunisierung an einer zweiten Gruppe von erwachsenen Kaninchen wiederholt.* Eine weitere Gruppe von jungen Kaninchen wurde ausschließlich mit komplettem Freundschén-Adjuvans nach Schema I immunisiert.

2.1.3. Futterzubereitungen bei Hunden und Ratten

Im Fütterungsversuch bekamen junge Dackel (je 2 ♀ 1 ♂) eine Mischung aus Schweine- bzw. Pferde-Muskelfleisch, entsprechender Innereien, Weißbrot, Kalk und Vitaminen sowie Wasser ad libitum. Gefüttert wurde zweimal täglich. Die Tiere aus beiden Gruppen wurden getrennt gehalten und gefüttert.

Die im Fütterungsversuch verwendeten Ratten bekamen je nach Gruppe nur Muskelfleisch verschiedener Sorten und entsprechende Innereien sowie Wasser ad libitum. Eine weitere Gruppe von Ratten wurde mit synthetischem Futter ernährt.**

2.1.4. Serum und Milchgewinnung

Bei Hunden wurde Blut durch Punktion der Vena cephalica bzw. des Herzens, bei Ratten durch Punktion der A. abdominalis entnommen. Bei menschlichen Neugeborenen wurde entweder Nabelschnur-Blut verwendet, oder bei Säuglingen Blut durch Anstechen der Ferse gewonnen. Kaninchen wurde aus den Ohrvenen Blut entnommen.

Die Milch des Menschen und verschiedener untersuchter Tiere wurde durch Abpumpen aus der Brustdrüse gewonnen.

* Die Arbeiten erfolgten im Max von Pettenkofer Institut für Hygiene und Med. Mikrobiologie der Universität München.

** Die Seren dieser synthetisch gefütterten Tiere wurden vom Institut für Versuchstierkunde, Berlin, zur Verfügung gestellt.

2.2. Übersichtstabellen - Tierrasse, Haltung, Immunisierung

In den nachstehenden Tabellen sind die verschiedenen Haltungsbedingungen der einzelnen Tiere - je nach Versuchsaufbau erheblich differierend - vergleichend zusammengefaßt. In der letzten Querspalte ist auch eine Angabe darüber gemacht, wo der entsprechende Versuch zu finden ist.

2.2.1. Hunde

Tabelle 5

Übersicht über die Art und Dauer der Fütterung von Hunden:

RASSE	ALTER	FUTTER UND ZEITPUNKT	HALTUNG	VERSUCH
Bestard	Feten 0 Tage	Milch bis Ende 4. Woche, ab dann gemischtes Futter	Konventionell	C 1.2.
Schäfer	2.-16. Woche	" "	"	C 1.2. C 3.1.
Beagles	6.u.10. Woche	" "	"	"
Dackel	6.-16. Woche	Milch bis 7. Woche, ab dann def. Fleisch- fütterung	"	"
Beagles	6.-16. Woche	Rindermilchkonzentrat bis Ende der 7. bzw. 9. Woche, ab dann PAL (Dosenfleisch)	keimfrei bzw. gnotobiotisch	C 4.1.

2.2.2. Schweine

Tabelle 6

Übersicht über die Art und Dauer der Fütterung von Schweinen:

RASSE	ALTER	FUTTER UND ZEITPUNKT	HALTUNG	VERSUCH
Deutsches Haus-Schwein	0 bis adult	Muttermilch, ab 3. Woche allmählich Übergang auf Altromin Pellets	konventionell*	C 1.3.
"	0 bis 5 Wochen	Rindermilchkonzentrat bis zur 2. bzw. 5. Woche	SPF	C 1.3. C 4.2.
"	5,5 Wochen	Rindermilchkonzentrat bis zur 5. Woche	keimfrei	"

2.2.3. Ratten

Tabelle 7

Übersicht über die Art und Dauer der Fütterung von Ratten:

RASSE	ALTER	FUTTER UND ZEITPUNKT	HALTUNG	VERSUCH
Sprague-Dawley	6.-18. Woche u. adult	bis 6. Woche Muttermilch, ab Anfang der 7. Woche def. Fleischfütterung	konventionell	C 3.1.
BD 6	"	" "	"	"
BD 9	"	" "	"	"
BD 9	adult	nach der Fleischfütterung 2 Monate Körnerfutter, dann wieder 2 Mon. Fleisch	"	"
Sprague-Dawley	"	völlig synthetisches Futter bis 6. Wo. Muttermilch, ab	SPF	C 3.2.
"	"	7. Wo. Altromin Pellets	keimfrei	C 4.3.

* Ein Teil der Seren wurde freundlicherweise vom Institut für Versuchstierkunde, Berlin, zur Verfügung gestellt.

2.2.4. Kaninchen

Tabelle 8

Übersicht über die Art und Dauer der Fütterung von Kaninchen:

RASSE	ALTER	FUTTER UND ZEITPUNKT	HALTUNG	VERSUCH
Deutsche Riesen und Rhei- nische Schecken	Feten 0 bis adult	Muttermilch, ab der 6. Woche Altromin Pellets	konventionell	C 1.5.
"	"	dto. dampfsterilisiert	SPF + keimfrei	C 4.3.

3. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials

3.1. Lagerung des Serums

Frisch entnommenes Blut wurde nach 2 Stunden Aufbewahrung bei Zimmertemperatur mit 2500 U/min. zentrifugiert und das Serum in Portionen von 0,15 ml bei -20°C sofort eingefroren.

3.2. Kartonelektrophorese

Hundeserum eines adulten Tieres wurde in Form eines Querstrichs auf einen mit Pufferlösung (pH 8,4) getränkten Filterpapierstreifen aufgebracht (5), dann 12 - 15 Stunden an einer Spannung von 120 V aufgetrennt und die erhaltenen Fraktionen mit der Schere einzeln ausgeschnitten.

Das Papier wurde anschließend ausgepresst und der gewonnene Extrakt über einen Membranfilter auf etwa 0,5 bis 1% Eiweißgehalt eingedickt.

3.3. Auftrennung über DEAE*, Sephadex** und Biogel***

Das zu fraktionierende Serum wurde 30 Minuten bei 56°C inaktiviert. Dann wurden zu 100 ml Serum 81,81 ml einer gesättigten $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ Lsg., die mit NaOH auf pH 8,0 gebracht wurde, tropfenweise untergerührt. Der entstandene Niederschlag enthielt neben geringen Mengen der anderen Globuline die Gesamtmenge der Gammaglobuline und Spuren von Albumin. Dieser Niederschlag wurde einige Male mit $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 45% Lsg. gewaschen, durch Zusatz von 1,5 l H_2O und 23 ml 10% NaHCO_3 in Lösung gebracht und von Trübungen durch Zentrifugieren befreit. Anschließend wurde das restliche in Lösung befindliche Ammoniumsulfat durch Dialyse gegen den Startpuffer (0,05 ml Tris HCL, 0,02 mol Phosphatpuffer) der DEAE Säule entfernt. Mit diesem angereicherten Gammaglobulin wurde eine DEAE Cellulose Säule beschickt. Der 1. Peak enthielt die IgG-Globuline, der 2. Peak IgM- und sonstige Globuline. Letzterer wurde gesammelt und über eine 2. Säule mit Sephadex G 200 weiter aufgetrennt. Der 1. Peak der Sephadex Säule enthielt dann IgM, der 2. IgA. Bei der Fraktionierung über Biogel entfiel eine DEAE Fraktionierung. Die einzelnen Peaks wurden über ein Membran-Filter auf ca. 0,5% Eiweißgehalt eingestellt (73, 91, 140).

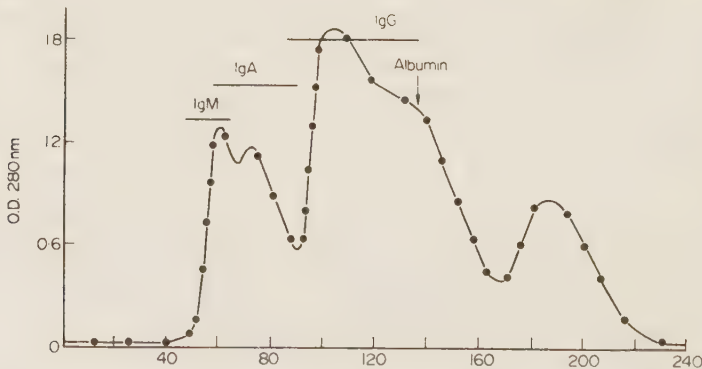


Abb.3 Schematische Darstellung einer Serumfraktionierung über Sephadex G 200 (ohne Vorbehandlung mit Ammoniumsulfat)

* = Fa. Pharmacia,
Uppsala, Schweden

** = Fa. Serva,
Heidelberg

*** = Fa. Biotest,
Frankfurt/M.

3.4. Behandlung mit Antiseren

Das zu untersuchende Serum bzw. die Milch wurden im verschiedenen Verhältnis mit käuflichen Antiseren vermischt und 2 Stunden bei 37°C bzw. 24 Stunden bei + 6°C inkubiert. Anschließend wurde bei 2000 Umdrehungen/min zentrifugiert und der Überstand auf präformierte Antikörper getestet (105). Als Kontrolle standen käufliche Standard-Fractionen der Bering-Werke IgG, IgE, IgM, IgA zur Verfügung. So behandelte Seren wurden immunoelektrophoretisch (35,129) oder in Tests nach Ouchterlony (56) auf Reinheit untersucht.

3.5. Behandlung mit 2-Mercaptoaethanol

Das Serum wurde mit einer 2-Mercaptoaethanol Lösung so versetzt, daß es 0,05 bzw. 0,1 Mol an Mercaptoaethanol enthielt. Anschließend wurde 2 Stunden bei 37°C inkubiert, der Niederschlag abzentrifugiert und gegen 0,9%ige phys. NaCl-Lösung (pH 7,4) dialysiert (121).

3.6. Absorption der PNAK gnotobiotischer Tiere mit kultivierten Kontaminationskeimen

Von Kotabstrichen der gnotobiotischen Tiere wurden Bakterien kultiviert und in phys. NaCl-Lsg. angereichert. Vier Keimsuspensionen wurden zu gleichen Teilen gemischt. 0,2 ml dieser Suspension wurden dann zu 0,5 ml Serum gegeben. Nach Inkubation von 2 Stunden bei 37°C wurden die Keime abzentrifugiert und der Überstand auf restliche PNAK getestet.

4. Testmethoden

=====

4.1. Hämagglutinations-Test

Die aufgetauten Seren wurden bei 56°C inaktiviert und 0,1 ml dann gemäß den üblichen Pipettierverfahren (Überpipettierung von jeweils einem mit 0,1 ml phys. NaCl-Lsg. - auf pH 7,4 mit NaOH-Lsg. eingestellt - beschickten

Gläschen zum anderen Gläschen) geometrisch 1:1, 1:2, 1:4 etc. verdünnt. Die als Antigen zu testenden Erythrozyten wurden 3 mal gewaschen und für den Test als 0,3%ige Aufschwemmung in phys. NaCl-Lsg. verwendet. Von dieser Suspension wurden jeweils 0,1 ml zu jedem der bereits mit 0,1 ml Serumverdünnung beschickten Gläschen gegeben. Anschließend wurde 90 min bei 37°C und weitere 30 min bei + 4°C inkubiert und dann die eingetretenen Reaktionen unter dem Mikroskop bei 10facher Vergrößerung beurteilt. Dieses Untersuchungsverfahren auf direkte hämagglutinierende komplette Antikörper wurde in der überwiegenden Mehrzahl aller nachfolgenden Versuche angewendet.

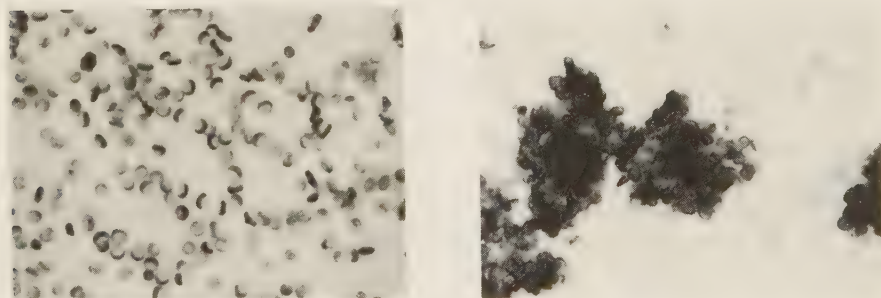


Abb. 4 Hämagglutinationsreaktionen

linkes Bild = keine Reaktion, rechtes Bild = stark positive Reakt.

4.2. Hämolysin - Test

Auf ca. 12 cm x 12 cm große Glasplatten wurde eine Suspension von gewaschenen Erythrozyten (der zu untersuchenden Tierart) in 1,5% Agarose - Agar (in Phosphatpuffer pH 7,4) etwa 3 mm dick aufgetragen. Nach dem Erkalten wurden im Abstand von 2 cm Löcher mit einem Durchmesser von 2 mm ausgestanzt und mit einer definierten Menge bei 56°C inaktivierten Serums gefüllt, 12 Stunden bei 37°C inkubiert und anschließend mit Komplement bedeckt. Als Komplementquelle wurde autologes Serum in einer Verdünnung von 1:10 verwendet. Das Komplement wurde alle 4 Stunden gewechselt. Der entstandene Hämolysehof wurde nach Größe und Stärke mit Ø + ++ +++ beurteilt. Kontrollen wurden nur mit autologem Serum durchgeführt.

4.3. Ouchterlony-Test

Der Test wurde nach der von KABAT - MEYERS angegebenen Modifikation durchgeführt. Als Antigen diente Fleischextrakt des jeweiligen Futters. Muskelfleisch, Milz und Leber wurden mit phys. NaCl-Lsg. 1:1 homogenisiert, auf pH 7,2 eingestellt, 24 Stunden bei 6°C stehen gelassen, nochmals homogenisiert, bei ca. 3000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und der klare, opaleszierende Überstand im Test verwendet.

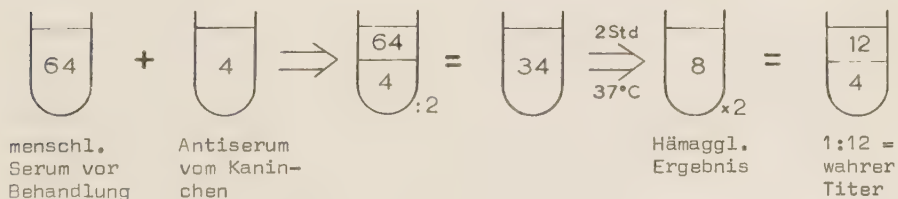
5. Berechnungen

5.1. Umrechnung von Verdünnungseffekten

Die Behandlung von Testseren mit präzipitierenden Antiseren führte zu einer Verdünnung der Seren und damit zu einer Senkung der Antikörpertiter. Wegen dieser technisch bedingten Verfälschungen wurde der Antikörpertiter des getesteten Serums korrigiert.

Beispiel:

Es soll das Serum eines Menschen mit dem Titer 1:64 (in der Hämagglutination gegen Hund) untersucht werden. Das verwendete Antiserum von Kaninchen gegen Gammaglobuline vom Mensch habe einen Titer 1:4 (dto. gegen Hund in der Hämagglutination). Nach dem Mischen gleicher Teile beider Seren ergibt sich ein Titer von 1:34, nach 2 Stunden Inkubation bei 37°C nur noch ein Titer von 1:8. Um den "wahren Titer" des menschlichen Serums nach Behandlung mit dem Anti-Gammaglobulinserum zu erhalten, muß der Verdünnungseffekt berücksichtigt werden, dann ergibt sich ein Titer von 1:12.



Derartige Berechnungen wurden in Kap. C 2. angewandt.

5.2. Statistische Berechnungen

Für die Errechnung der Mittelwerte, der Standardabweichungen und der t-Werte stand ein OLIVETTI Tischcomputer "programm 101" mit zugehörigem Programm zur Verfügung.

Für die Auswertung der t-Tests wurden SNEDECOR's Tabellen verwendet.

C. E R G E B N I S S E

1. Das Auftreten der hämagglutinierenden PNAK im Laufe des Lebens und ihre Übertragung über Milch und Placenta

Für die Untersuchungen über die Zugehörigkeit der PNAK zu einer Immunglobulin-klasse, Auslösemechanismen etc. war es notwendig, zuerst das Auftreten und die Entwicklung der PNAK im Laufe des Lebens genau zu kennen. Die darüber erhaltenen Ergebnisse sind in den nachfolgenden Tabellen zusammengefaßt und werden jeweils am Ende eines Abschnittes an Hand einer graphischen Darstellung kurz besprochen.

1.1. Entwicklung der PNAK beim Mensch

1.1.1. PNAK im Serum von menschlichen Neugeborenen

Tabelle 9

Verhalten der Titer Hunde-Erys
hämagglutinierender PNAK im Serum
unterschiedlich alter Kinder:

Alter:	M	0	1	2	6	15	100
Nr.1					4		
2						1000	
3					4		
4			8				
5				16			
6					16+		
7	1000	-					
8		-					
9		-					
10a	1000	8+					
10b	"	8+					
11					4		
12		16					
13		32					
14		2					
15	2000	8					
16					32		
17					32		
18					0		
19					8		
20					-		

Tabelle 10

Verhalten der Titer Pferde-Erys
hämagglutinierender PNAK im Serum
unterschiedlich alter Kinder:

Alter:	M	0	1	2	6	15	100
Nr.1						2	
2							256
3					32		
4			128				
5				32+			
6						64	
7	4000	8					
8		8+					
9		2000					
10a	2000	4+					
10b	"	4+					
11					8		
12		32					
13		8+					
14		2000					
15	2000	8					
16					16		
17					16		
18					32		
19					4		
20					16		

Tabelle 11

Verhalten der Titer Schweine-Erys
hämagglutinierender PNAK im Serum
unterschiedlich alter Kinder:

Alter: M 0 1 2 6 15 100

Nr.	M	0	1	2	6	15	100
1						8	
2						1000	
3				8+			
4			250				
5				64			
6					128		
7	4000	16					
8		32+					
9		128					
10a		8					
10b		8+					
11				16			
12		250					
13		32+					
14		128					
15	4000	16					
16				32+			
17				32			
18				8			
19				8			
20				32			

Tabelle 12

Verhalten der Titer Kaninchen-Erys
hämagglutinierender PNAK im Serum
unterschiedlich alter Kinder:

Alter: M 0 1 2 6 15 100

Nr.	M	0	1	2	6	15	100
12		64					
13		8+					
14		32					
15	4000	2					
16					8		
17					16		
18					0		
19					2		
20					-		

Altersangaben = Tage

Die fehlenden Titerwerte konnten wegen Mangel an Serum nicht bestimmt werden.

1.1.2. PNAK in der Milch von stillenden Müttern

Tabelle 13

Verhalten der PNAK Titer gegen Erythrozyten verschiedener Spezies in der
Milch stillender Mütter:

Hämagglutination gegen:		H	P	S	K	MB	MO
Blutgruppe:	O Rh+	32	32	2000	1000	250	0
	A Rh+	1000	128	1000	500	128	0
	A Rh+	250	500	4000	4000	500	0
	A Rh+	250	64	2000	2000	128	0
	O rh-	2000	128	4000	8000	250	0
	B rh-	64	500	2000	1000	0	0

1.1.3. Durchschnittswerte der PNAK Titer im Serum von Neugeborenen

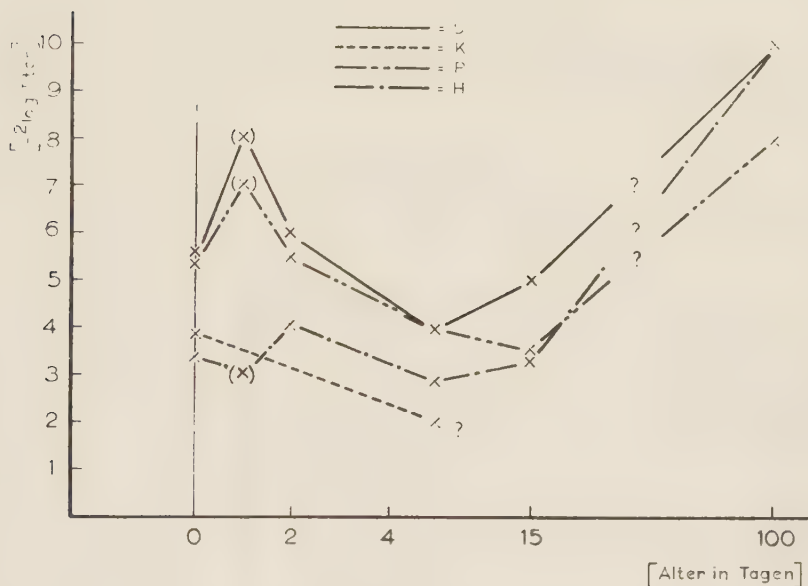


Abb.5 PNAK Titer im Serum von Kindern während der ersten 100 Lebenstage

? = Für dieses Alter liegen keine Werte vor. (x) = n=1

Neugeborene besitzen bei der Geburt im Serum PNAK Titer von 1:16 und höher. Die Aufnahme der relativ hochtitrigen Milch in den ersten Lebenswochen bewirkt jedoch keinen weiteren Anstieg.

Die Titer gegen alle untersuchten Erythrozyten fallen etwa bis zur 2. Lebenswoche ab, um danach wieder allmählich bis auf Erwachsenenwerte anzusteigen.

1.2. Entwicklung der PNAK beim Hund

1.2.1. Antikörper im Serum von jungen Hunden

Wie die nachfolgenden Ergebnisse (Tab. 14-16) zeigen, werden im Gegensatz zum Menschen die PNAK beim Hund nicht diaplazentar übertragen. Die Eigenproduktion dagegen setzt - etwa ähnlich wie beim Mensch - um die 4.-6. Lebenswoche ein.

Tabelle 14

Verhalten der Titer von MB-Erys hämagglutinierenden PNAK im Serum unterschiedlich alter Hunde:

Alter:	M	0	1	3	7	14	28	42	70	100	Bemerkungen
Nr.1a	250+	0									Bastardtiere
1b	"	0									
1c	"		0								
2a		0									
2b				0							
2c				0							
2d					0						
2e					0						
3a	32+		0								
3b	"			0							Schäferhunde
3c	"				0						
4a	500					0	0+	8	16	16+	
4b	"					0	0	4	8+	64	
4c	"					0	0	8	64+	16	
4d	"					0	0	4+	500	64	
5a								16	128	250	Dackel
5b								0	8	128	
5c								4	16	16	
5d								4+	32	250	
5e								16+	128	250	
5f								128	250	128	
6a									8+		Beaglegruppe I (siehe Kap. C 4.1. und Kap. C 5.7.)
6b									32		
6c									8		
6d									64		
6e									16		
6f									16		
6g									-		
7a								16	32		Beaglegruppe II (siehe Kap. C 4.1. und Kap. C 5.7.)
7b								4	32		
7c								64	64		
7d								8	16		

Tabelle 15

Verhalten der Titer von MO- bzw. Pferde-Erythrozyten hämagglutinierenden
PNAK im Serum unterschiedlich alter Hunde:

PNAK gegen MO :

PNAK gegen P :

A:	0	1	3	7	14	28	42	70	100	0	1	3	7	14	28	42	70	100
1a	0									0								
1b	0									0								
1c		0									-							
2a	0									0								
2b												8+						
2c												4+						
2d													8+					
2e													8+					
3a		0								32+								
3b			0								8+							
3c				0								32						
4a					2	4+	8	2	8					0	2+	64+	500	250
4b					0	4	4	4	16					-	16	16+	250	250
4c					2	4	8	8	8					0	8	500	500	250
4d					2	2+	8	2+	8					0	0-2	250	500	500
5a							4	8	8							8	64	128
5b							4	8	8							2	16	32
5c							2	4	16+							0	16	16
5d							2+	4	8							2	64+	1000
5e							4	4	16							0	8+	32
5f							2+	4+	8							4+	64	250
6a								4									250	
6b								-									32	
6c								2									128	
6d								-									128	
6e								-									500	
6f								-									64+	
6g								-									128	
7a							4	16									16	1000
7b							4	8									32	1000
7c							8	16+									128	500
7d							4	16									32	500

A = Alter in Tagen

In der Tabelle nicht aufgeführte Werte:

PNAK Titer gegen MO der Mutter von Tier Nr. 3a-3c = 1:4

PNAK Titer gegen P der Mütter von Tier Nr. 1a-c = 1:500, 3a-c = 1:1000,

4a-d = 1:500, 6a-g = 1:1000

Tabelle 16

Verhalten der Titer von Schweine- und Kaninchen-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK im Serum unterschiedlich alter Hunde:

PNAK gegen S:											PNAK gegen K:										
A:	0	1	3	7	14	28	42	70	100		0	1	3	7	14	28	42	70	100		
1a	0										0										
1b	0										0										
1c		0										0									
2a	0										0										
2b				0									0								
2c				0									0								
2d					0									0							
2e					0									0							
3a		0										0									
3b			0										0								
3c				0										0							
4a					0	0	4+	128	250						0	2+	64	32	32		
4b					0	0	2+	250	64+						0	4	16	16	64		
4c					0	2	16	250	32						0	2	32+	64	250		
4d					0	0	16	250	32						0	16	16	64	64		
5a							2	4+	500								16	16	32		
5b							0	8	128								4	8	32		
5c							0	4+	32								2+	32	16		
5d							0	2+	32								8	64	32		
5e							0	8	128								4	16+	16		
5f							0	8	128								8	8	16		
6a								32													
6b								16													
6c								250													
6d								64													
6e								128													
6f								250													
6g								4													
7a								4128													
7b								216													
7c								416													
7d								832													

A = Alter in Tagen

In der Tabelle nicht aufgeführte
Werte: PNAK Titer gegen S der
Mütter von Tier Nr. 1a-1c = 1:500,
3a-3c = 1:16, 4a-4d = 1:500,
6a-6g = 1:500

A = Alter in Tagen

In der Tabelle nicht aufgeführte

Werte: PNAK Titer gegen S der

Mütter von Tier Nr. 1a-1c = 1:500,

3a-3c = 1:16, 4a-4d = 1:500,

6a-6g = 1:500

1.2.2. Antikörpertiter in der Milch säugender Hündinnen

Auch Hunde besitzen PNAK in der Milch. Deutlich ist zu sehen, daß die Titer der Milch eng mit den Serumtitern korrelieren (Tab.17). Die Milch wurde am 4. Tage nach der Geburt der Jungen gewonnen.

Tabelle 17

Verhalten der PNAK Titer in der Milch und im Serum einer säugenden Hündin:

Hämagglutination gegen:	MB	MO	S	P	K	H
Mutter von Tier 3a-3c	32+	4	16	1000	-	0
Milch dieser Mutter	64	4	64+	500	-	0

1.2.3. Durchschnittswerte der PNAK Titer im Serum von Hunden

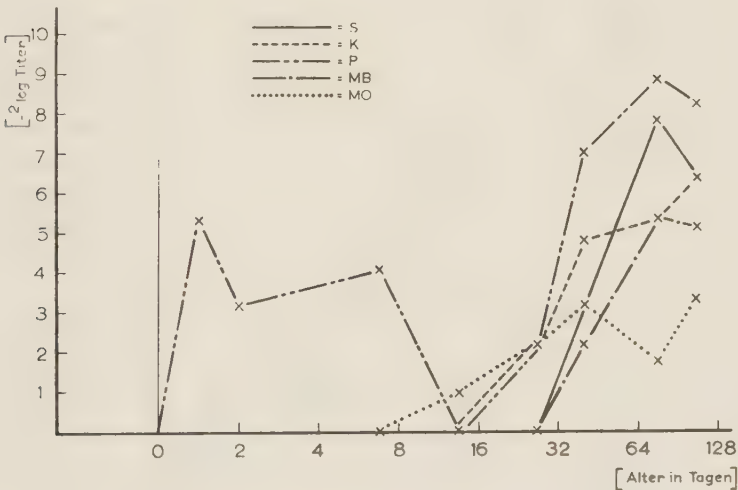


Abb. 66 PNAK Titer im Serum junger Hunde (Nr. 1a-4d) bis zum Alter von 28 Tagen

Hunde besitzen bei Geburt keine PNAK Titer. Bis auf die hämagglutinierenden Antikörper gegen Pferd, die bis zur 2. Woche wieder auf Null abfallen, treten PNAK erst ab der 2.-4. Woche im Serum auf. Die Antikörper aus der Milch treten offenbar nicht ins Blut über, wenn man von den Antikörpern gegen Pferd absieht. Für diese besteht neben der Übertragung durch die Milch noch die Möglichkeit einer Aufnahme aus Dottersackresten (siehe Diskussion).

1.3. Entwicklung der PNAK beim Schwein

Beim Schwein wurde nicht nur die Entwicklung der PNAK mit Muttermilch aufgezogener Jungtiere verfolgt (Abb.8), sondern auch die von Ferkeln, die künstlich mit Rindermilch ernährt wurden (Abb.9 und Tab. 18-19).

1.3.1. Antikörpertiter im Serum von Schweinen

Tabelle 18

PNAK Titer gegen MB im Serum unterschiedlich alter Ferkel:

A(Tage):		M	F	0	2	7	10	14	21	28	35	70	100	Bemerkungen
Nr.	1a	1000	0											Tier Nr.1a-8e = <u>Konventionelle</u> , mit Muttermilch aufgezozene Tiere, die ab der 3.Wo- che zusätzlich Altromin Pellets bekamen.
	1b	"	0											
	2a	500		0	64	32	4+				4+	32		
	2b	"		0	16	8+	4+				32	800		
	2c	"		0	8+	8	8				4	8		
	2d	"		0	16	8	2				16+	32		
	3	500		0										
	4a	500		0										
	4b	"		0										
	5a	250		0										
	5b	"		0										
	6a	500							500					
	6b	"							16					Tier Nr.9a-13 = <u>SPF Tiere</u> ohne Muttermilch, die mit konzentrier- ter sterilisier- ter Rindermilch gefüttert wurden und ebenfalls ab der 3. Woche Pel- lets bekamen.
	6c	"							16+					
	6d	"							8+					
	6e	"							16+					
	7a										64			
	7b										128+			
	7c										128			
	7d										128			
	7e										64			
	8a											2000		
	8b											256		
	8c											1000		
	8d											500		
	8e											500		
	9a								0					
	9b								0					
	9c								0					
	9d								0					
	9e								0					
	10a							0		0+				
	10b							0		32				
	10c							0		0+				
	10d							0		2				
	10e							0		0+				
	11										16+			
	12a										32			
	12b										4+			
	13										8+			

Tabelle 19

Verhalten der Titer von Hunde- und Pferde-Erythrozyten hämagglutinierenden
PNAK im Serum unterschiedlich alter konventioneller Ferkel und SPF Ferkel:

PNAK gegen H:

A :	M	F	0	2	7	10	14	21	28	35	70	100
1a	250											
1b	"											
2a	128	0(1a)	0	128+	128	64		8(6a)		16	32	1000(8a)
2b	"	0(1b)	0	16	64+	16+		4(6b)		32	128+	250(8b)
2c	"		0	16	128	16		4(6c)		8	32	250(8c)
2d	"		0	8+	32	16		8(6d)		16	16	250(8d)
3	250		0					4(6e)		16(7a)		64(8e)
4a	128		0							1000(7b)		
4b	"		0							64(7c)		
5a	128		0							64(7d)		
5b	"		0							32(7e)		
10a							0	0(9a)	0+	0(11)		
10b							0	0(9b)	0	0(12c)		
10c							0	0(9c)	0	0(12b)		
10d							0	0(9d)	0	0(13)		
10e							0	0(9e)	0+			

PNAK gegen P:

A :	M	F	0	2	7	10	14	21	28	35	70	100
1a	1000											
1b	"											
2a	1000	0(1a)	0	1000	250	64+		250(6a)		64	128	1000(8a)
2b	"	0(1b)	0	500	64	16		128(6b)		250	128	1000(8b)
2c	"		0	16	32	8		64(6c)		128	128+	1000(8c)
2d	"		0	16	4+	2		32(6d)		128	128	1000(8d)
3	1000		0					500(6e)		500(7a)		1000(8e)
4a	1000		0							2000(7b)		
4b	"		0							1000(7c)		
5a	1000		0							1000(7d)		
5b	"		0							1000(7e)		
10a							0	0(9a)	4	8(11)		
10b							0	0(9b)	0	16(12c)		
10c							0	0(9c)	32	8(12b)		
10d							0	0(9d)	2	8(13)		
10e							0	0(9e)	128			

A = Alter der Tiere in Tagen

Die Werte mit Tiernummern in Klammern wurden aus Platzgründen in die Reihe
anderer Tiere geschrieben: z.B. 64(7c) = Titer von Tier Nr.7c = 1:64;

Weitere Erläuterungen siehe Tab. 18

Neben den PNAK Titern normaler unbehandelter Schweinemilch sind in der nachfolgenden Tabelle (Tab.20) auch die PNAK Titer derjenigen Milch eingetragen, mit der die künstlich aufgezogenen Ferkel ernährt wurden. Es zeigte sich, daß die Sterilisierung alle PNAK zerstört.

Tabelle 20

PNAK Titer von Schweinemilch - im Vergleich mit normaler, sterilisierter und als Futter für SPF Ferkel verwendeter, konzentrierter und sterilisierter Rindermilch:

Hämagglutination gegen:	MB	MO	P	H	S
Schweinemilch (Mutter von Tier Nr.4a-4d)	16	32	2000	64	0
konzentrierte Rindermilch (Futter der SPF Schweine)	0	0	0	0	0
normale, unkonzentrierte sterilisierte Rindermilch (120°, 1 atü)	0	0	0	0	0

1.3.3. Immunelektrophorese von Ferkelseren, vor und nach Kolostralmilch

Aufnahme

Bei der Untersuchung von Ferkelseren (vor und nach Kolostralmilchaufnahme) zeigte sich, daß neugeborene Ferkel noch keine Gammaglobuline besitzen. Sie nehmen diese jedoch dann über die Muttermilch auf (Abb. 7a u. 7b).



Abb.7a Immunelektrophorese von Schweineseren (siehe Abb.7b)

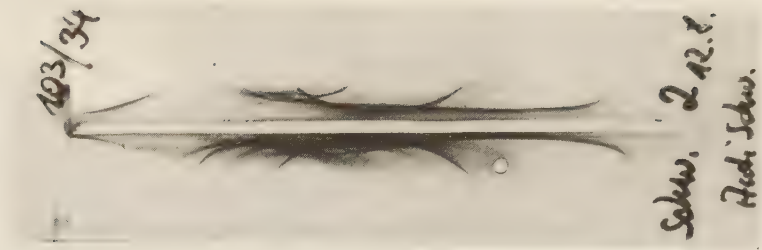


Abb.7b Immunelektrophorese des Serums von Tier Nr. 2a gegen Anti-Schweine Serum von Kaninchen; 10.8. = Ferkel vor (Abb.7a), 12.8. = Ferkel nach Kolostrumaufnahme; Schw = Kontrollserum eines erwachsenen Schweines

Außer der fehlenden Gammaglobulinbande sind keine weiteren Veränderungen zu sehen. Es darf deshalb angenommen werden, daß die PNAK ein Teil dieser über die Muttermilch aufgenommenen Globuline sind. Im nächsten Kapitel (C 2.3.) wird darauf näher eingegangen.

1.3.4. Durchschnittswerte der PNAK Titer im Serum von Ferkeln mit und ohne Kolostralmilch

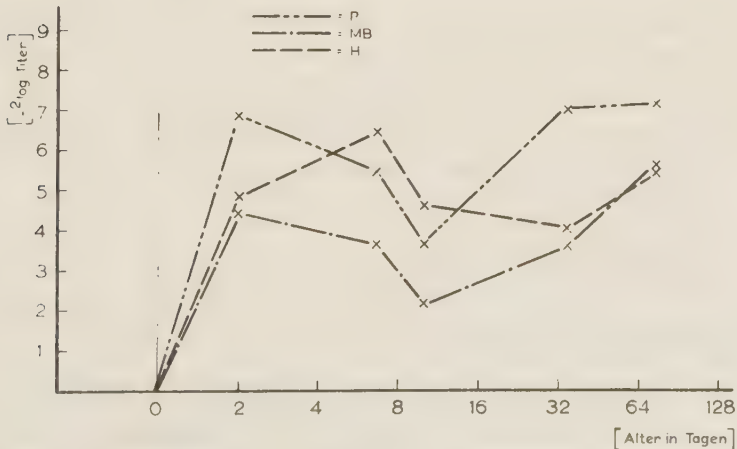


Abb.8 PNAK Titer junger Ferkel (Tier 2a-2d), die ab Geburt mit mit Muttermilch gesäugt wurden

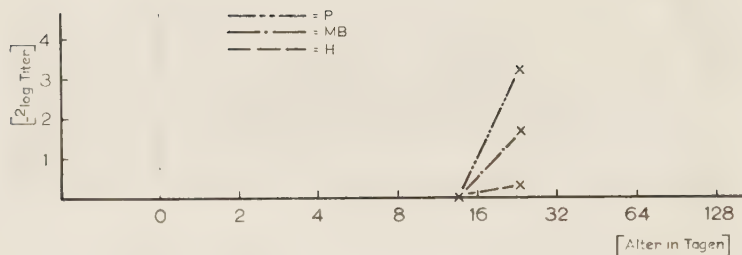


Abb.9 PNAK Titer junger Ferkel (Tier 10a-10e), die anstelle von Muttermilch mit sterilisierter, konzentrierter Rindermilch aufgezogen wurden

Die Untersuchungen bzw. Versuche zeigen also, daß das neugeborene Schwein keine hämagglutinierenden PNAK besitzt. Über die Kolostralmilch werden dann in den ersten Tagen große Mengen von Gammaglobulinen aufgenommen (Abb.8). Die Titer der jungen Ferkel steigen dadurch bis zum 2. Tage rasch an, erreichen aber in der Regel nicht die Werte der Mutter und fallen kurz darauf auch wieder ab. Dem Abfall bis zur 4. Woche folgt ab der 5. Woche ein erneuter Anstieg der PNAK Titer, die ab der 10.-15. Woche dann Erwachsenen-Titer erreichen.

Tiere, die keine Muttermilch erhielten, sondern mit PNAK freier, konzentrierter, sterilisierter Rindermilch ernährt wurden, zeigen weder Antikörpertiter nach 2 Tagen noch in den nächsten Wochen (Abb.9).

Sie beginnen erst ab der 3.-4. Woche PNAK zu produzieren, ohne daß Antikörper über die Milch aufgenommen wurden.

1.4. Entwicklung der PNAK beim Rind

1.4.1. Antikörper im Rinderserum

Stichprobenartige Untersuchungen der Seren neugeborener (vor und nach Kolostrumaufnahme) und etwas älterer Kälber und Untersuchungen entsprechender Muttermilch zeigen, daß beim Rind ähnlich wie beim Schwein die PNAK über die Milch aufgenommen werden (Tab. 21+22).

Tabelle 21

Verhalten der PNAK Titer im Serum unterschiedlich alter Rinder:

Alter(Tage) : 0 2 100 200					Alter(Tage) : 0 2 100 200				
PNAK	Nr.1	0			PNAK	Nr.1	0		
	2	0				2	0		
gegen	3		128		gegen	3		8+	
	4			128		4			16
<u>MB</u>	5			16	<u>Schwein</u>	5			8
	6			250		6			4+
	7			8+		7			2
	8			32		8			32
	9			128		9			8

PNAK	Nr.1	0			PNAK	Nr.1	0		
	2	0				2	0		
gegen	3		1000		gegen	3		32	
	4			1000		4			32
<u>Pferd</u>	5			32+	<u>Hund</u>	5			4+
	6			500		6			4+
	7			16+		7			4
	8			128		8			0
	9			1000		9			64+

1.4.2. Antikörper in Rindermilch

Tabelle 22

Verhalten der PNAK Titer in Rindermilch:

Hämagglutination gegen:	MB	MO	P	S	H	R
Titer:	8+	8	64	16	8	0

1.5. Entwicklung der PNAK beim Kaninchen

1.5.1. Antikörper im Serum von Kaninchen

In den nachfolgenden Tabellen (23-25) sind die Ergebnisse der Untersuchungen von jungen Kaninchen aufgeführt.

Tabelle 23

Verhalten der Titer von MB- und MO-Erys hämagglutinierenden PNAK im Serum unterschiedlich alter Kaninchen:

PNAK gegen MB (MO):

A (Tage):		M	F	0	1	3	7	14	21	42	100	Bemerkungen
Nr.												
1a			128									
1b			128									
1c			128									
1d			128									
1e			128									
2a				4+								2a u. 2b = nicht lebensfähige Tiere
2b				4								
3a			64									
3b			64									
3c			8+									4a u. 4b = nicht lebensfähige Tiere
4a			0									
4b			0									
5a					16							
5b							2+					10a u. b u. 11a u. b sind gepoolte Seren von je 4 (10a u. b) bzw. von je 3 (11a u. b) Tieren aus zwei Würfen mit 8 (10a u. b) bzw. 6 (11a u. b) Tieren
5c							2					
5d								0				
5e								0				
5f									0			
6a				0								
6b							0					
6c								0				
6d									0			
7a						8						
7b						16						
7c						16						
8a										8		
8b										8		
8c										16		
8d										8		
8e										32		
9a										0		
9b										0		
9c										0		
10a	128(16)		32(4)									
10b	" "		32(4)									
11a	16(8)		0(0)									
11b	" "		0(0)									
12a									0			
12b										0		
12c										0		

Werte in Klammern = Titer gegen MO

Tabelle 24

Verhalten der Titer von Hunde- und Pferde-Erythrozyten hämagglutinierenden
PNAK im Serum unterschiedlich alter Kaninchen:

PNAK gegen H:

PNAK gegen P:

A:	F	0	1	3	7	14	21	42	100	F	0	1	3	7	14	21	42	100
1a	16+									32								
1b	16+									64								
1c	16+									32								
1d	16									32								
1e	32									64								
2a		0									0							
2b		0									2							
3a	4									8								
3b	4									2								
3c	2									4								
4a	2									2								
4b	0									2								
5a			2									4+						
5b					0									2				
5c					0									2				
5d						0										0		
5e						0										8		
5f							0										0	
6a		0										2						
6b				0										0				
6c					0										0			
6d						0											0	
7a				0									2+					
7b				0									4+					
7c				8									8					
8a							2											32
8b							4+											16
8c							2											16
8d							4											
8e							4											
9a								0										4
9b								0										4
9c								2										8
10a		8 (M = 1:16)										64+ (M = 1:128+)						
10b		4+ "										32+ "						
11a		2 (M = 1:16)										2+ (M = 1: 16+)						
11b		4 "										8 "						
12a							0									0		
12b								0+									0	
12c								0									4	

A = Alter in Tagen, weitere Erläuterungen s. Tab. 23

Tabelle 25

Verhalten der Titer von Schweine-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK im Serum unterschiedlich alter Kaninchen:

Alter:	F	0	1	3	7	14	21	Alter:	0	1	3	7	21	42	100
Nr. 1a	32							Nr. 7a			8				
1b	32							7b			16				
1c	32+							7c			2+				
1d	16+							8a						2	
1e	16+							8b						8+	
2a	0							8c						4	
2b	0							8d						4	
3a	2+							8e						8	
3b	4							9a						0	
3c	2							9b						0	
4a	0							9c						4	
4b	0							10a	2	(M = 1:8)					
5a		8+						10b	2	"					
5b				0				11a	2	(M = 1:8)					
5c				0				11b	0	"					
5d					0			12a					0		
5e					0			12b						0	
5f						0		12c						0	
6a		4													
6b				0											
6c					0										
6d						0									

Altersangaben = Tage

weitere Erläuterungen s. Tab.25

1.5.2. Antikörper in der Milch von Kaninchenmüttern

Tabelle 26

Verhalten der PNAK Titer in Kaninchenmilch:

Hämagglutination gegen:	MB	MO	P	H	S	K
Titer:	8	4	8	8	0	0

Untersucht wurde die Milch eines Kaninchens, das 5 Tage zuvor 6 Junge geboren hatte. Es fällt auf, daß die Titer der Milch im Vergleich zu denen der Seren erwachsener Tiere sehr niedrig sind (Tab. 26).

1.5.3. Durchschnittswerte der PNAK Titer bei jungen Kaninchen

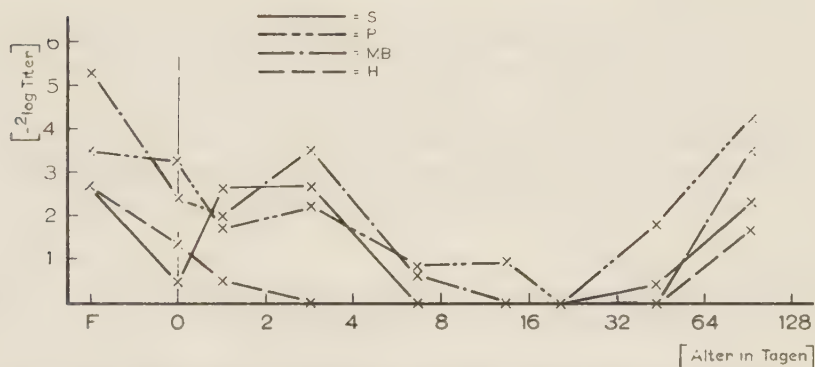


Abb.10 PNAK Titer fetaler, neugeborener und juveniler Kaninchen unterschiedlichen Alters (Tier Nr. 1a-12c)

Beim Kaninchen werden die PNAK der Mutter diaplazentar übertragen. Der bei den Neugeborenen dadurch entstandene Titer ist allerdings niedriger als derjenige der Mutter. Geschwisterfeten im Mutterleib besitzen alle dieselbe Menge an PNAK, während der Titer nach der Geburt bei Geschwistern nicht mehr einheitlich ansteigt oder fällt.

Einige der Kaninchenfeten wiesen keine Titer auf, es handelte sich dabei um lebensschwache Tiere.

Die Milch der untersuchten Kaninchen enthielt nur geringe PNAK Titer. Eine Übertragung dieser PNAK von der Milch auf den Neugeborenen konnte nicht nachgewiesen werden.

Die PNAK Titer fallen bereits kurz nach der Geburt (zwischen der 1. und 3. Woche) bis auf Null ab. Etwa 1-4 Wochen später - je nach Antigenart - steigen sie dann auf Erwachsenentiter an.

1.6. Verwandschaftsbeziehungen

Neben der Entwicklung der PNAK einzelner Tiere im Laufe des Lebens war es noch interessant zu untersuchen, ob verwandte Tiere vielleicht gleich hohe PNAK Titer bilden.

Für diese Untersuchungen wurden Hunde und Kaninchen verwendet, die in einem verschiedenen Verwandschaftsverhältnis standen. Es zeigte sich, daß der Grad der Verwandschaft keine Bedeutung für die PNAK Titer hat. Tiere, deren Mutter hohe PNAK Titer aufwies, besaßen dann als adulte Tiere oft niedrige Titer und auch gleichgeschlechtliche Geschwistertiere aus demselben Wurf bildeten ganz unterschiedliche Mengen an PNAK !

2. Immunglobulinklasse der hämagglutinierenden PNAK

Nachfolgend wird untersucht, ob die PNAK zu den Gammaglobulinen zählen und welcher speziellen Klasse sie zugehören. Die Untersuchungen beziehen sich vorwiegend auf menschliche Seren, da es für die meisten Immunglobuline vom Tier in der Regel noch keine Antiseren gibt. Nur orientierend wurden auch Schweine- und Hundeseren untersucht.

2.1. Menschliches Serum

2.1.1. Serum von Erwachsenen

Neben der Behandlung mit spezifischen Antiseren bzw. 2-Mercaptoaethanol wurde das Serum Erwachsener auch über Ionenaustauscher (DEAE) bzw. Sephadex und Biogel fraktioniert. Nachstehend sind die Ergebnisse in Tabellen aufgeführt. Eine Besprechung erfolgt am Schluß dieses Kapitels.

2.1.1.1. Fraktionierung über DEAE und Sephadex

Tabelle 27

Verhalten der PNAK Titer im Serum erwachsener Menschen verschiedener Blutgruppen nach Fraktionierung über DEAE bzw. Sephadex:

Hämagglutination gegen:	H	S	P	K	Bemerkungen
unbehandeltes Serum AB	500	1000	1000		Das Serum AB wurde über einen Zeitraum von ca. 14 Tagen fraktioniert. Die Aussagekraft ist deshalb eingeschränkt.
Überstand nach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	64	32	64		
Bodensatz nach " "	250+	2000	1000		
1.Peak nach DEAE = IgM	16+	8	-		
2.Peak über Sephadex davon 1.Peak (= IgM)	16+	8	4		
2.Peak von Sephadex (=IgA)	0	0	0		

unbehandeltes Serum A	64+	64	32		AB, A und O sind die Blutgruppen der jeweiligen untersuchten Seren
Überstand nach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0	0	0		
Bodensatz " "	500	1000	1000		
1.Peak nach DEAE	0	0	0		
2.Peak über Sephadex davon 1.Peak	16	8	4		

unbehandeltes Serum O	64		64	500	
Überstand nach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	0		0	0	
a) 1.Peak nach DEAE	0		0	4	
2.Peak nach DEAE	32		32	500	
b) 1.Peak nach DEAE	0		0	16	
2.Peak nach DEAE	16		32	500	

2.1.1.2. Fraktionierung über Biogel

Tabelle 28

Verhalten der PNAK Titer im menschlichen Serum der Blutgruppe O nach Fraktionierung über Biogel:

Hämagglutination gegen:	H	P	K
unbehandeltes Serum O	64	64	500
1.Peak nach Biogel (=IgM)	0	8	500
2.Peak nach Biogel (=IgA)	0	0	2+
3.Peak nach Biogel (=IgG)	0	0	0

2.1.1.3. Behandlung mit 2-Mercaptoaethanol

Tabelle 29

Verhalten der PNAK Titer in menschlichen Seren der Blutgruppe A und O nach Behandlung mit 2-Mercaptoaethanol in unterschiedl. Konzentrationen:

Hämagglutination gegen:	H		P		S		K	
unbehandeltes Serum A	64+		32+		64			
Serum A $\Rightarrow$ 0,10 mol ME	(4)	6	(2)	3	(4+)	9		
" $\Rightarrow$ 0,20 mol ME	(2)	6	(0)	0-3	(4)	12		
" $\Rightarrow$ 0,30 mol ME	(0)	0-6	(0)	0-6	(4)	16		
unbehandeltes Serum O	64		64+				500	
Serum O $\Rightarrow$ 0,05 mol ME	(2)	3	(16)	20			(250)	300
" $\Rightarrow$ 0,10 mol ME	(0)	0	(4)	6			(8+)	16
" $\Rightarrow$ 0,20 mol ME	(0)	0	(0)	0			(4)	12

$\Rightarrow$: Das Serum wurde mit 2-Mercaptoaethanol auf 0,10 ml etc. eingestellt.

Die Ergebnisse der Behandlung mit 2-Mercaptoaethanol zeigen, daß die PNAK Erwachsener spezifisch zu entfernen sind. Da es auch Serumfraktionen käuflich zu erwerben gibt, sollten auch diese noch untersucht werden:

2.1.1.4. Untersuchung von käuflichen Serumfraktionen

Tabelle 30

PNAK Titer in käuflichen Serumfraktionen *:

Häm / Elektrophorese:	K	P	H	IgM	IgG	IgA
IgM Standard (ca. 4/5 der physiolog. Konzentration)	(1000) 1250	(500) 625	(32+) 60	++	+	$\emptyset$
IgG Standard (ca. 1/1 der physiolog. Konzentration)	(16) 16	(8) 8	(4) 4	$\emptyset$	+	$\emptyset$
IgD Standard (ca. 25/1 der physiolog. Konzentration)	(500) 20	(500) 20	(32) 1	++	+	$\emptyset$
IgA Standard (ca. 1/1 der physiolog. Konzentration)	(32) 32	(16+) 16+	(4) 4	$\emptyset$	+	+

IgM, IgG, IgA = Immunelektrophoretische Reinheitskontrolle

* Behring Werke, Marburg

2.1.1.5. Behandlung mit Antiseren

In den nachfolgenden Tabellen (31 und 32) sind die PNAK Titer aufgeführt, die sich in den jeweiligen Seren nach Inkubation mit spezifischen Antiseren (insbesondere Antiseren gegen die verschiedenen Gammaglobuline) fanden. Um eine Kontrolle zu bekommen, inwieweit die Behandlung mit den Antiseren von Erfolg war, wurde vom inkubierten Serum stets eine Immunelektrophorese angesetzt.

Tabelle 31

Verhalten der PNAK Titer im menschlichen Serum bzw. in Serumfraktionen nach Inkubation mit spezifischen Antiseren:

Häm/Elektroph.:	K	2 Std. 37°C		P	24 Std. 6°C	2 Std. 37°C		
		H			K	IgM	IgG	IgA
PNAK Titer vor Inkubation:								
Test-Serum	500	64		64+	500	+	+	+
Anti IgM Serum	0	4		2	0			
" IgD "	2	4		8	2			
" IgF "	0	0		2	0			
" IgA "	2	4		0	2			
" IgG "	2	4		4	2			
" β_2 "	2	4		16	2			

PNAK Titer nach Inkubation mit:

1/2 Teilen A IgM	(16)	24	(4)	4	(4)	10	(16)	24	+	+	+
1 " A IgM	(8)	16	(0)	0	(0)	0	(8)	16	Ø	+	+
2 " A IgM	(4)	16	(0)	0	(2)	2	(8)	24	Ø	+	+
1 T.A IgM + 1 T.A IgG	(8)	15	(0)	0	(4+)	8	(8)	15	Ø	Ø	+
1 T.A IgM + 1 T.A IgA	(8)	15	(2)	0	(0)	0	(8)	15	Ø	+	Ø
1 Teilen A IgG	(250)	500	(8)	12	(32+)	92	(128)	500	+	Ø	+
2 " A IgG	(250)	500	(8)	20	(32)	92	(128)	500	+	-	-
1 " A IgA	(250)	500	(16+)	44	(16+)	48	(250)	500	+	+	Ø
2 " A IgA	(250)	500	(8+)	32	(16)	48	(250)	500	+	+	Ø

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 31:

	K		H		P		K	IgM	IgG	IgA
1. Peak nach DEAE	16		0		0		16	∅	+	∅
1 T." + 1 T. A IgM	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0) 0	∅	+	∅
2. Peak nach DEAE	500		16		32		250	+	+	∅
1 T." + 1 T. A IgM	(4+)	12	(8)	12	(0)	0	(8) 16	∅	+	∅
1. Peak und Biogel	64+		0		8		500	+	∅	∅
1 T." + 1 T. A IgM	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0) 0	∅	∅	∅
2. Peak und Biogel	2		0		0		2+	∅	+	+
1 T." + 1 T. A IgM	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(2) 4	∅	+	+

Verhalten der PNAK Titer im Serum oder Serum-Fraktionen (1 Teil des 1. Peaks nach DEAE + 1 Teil Anti IgM etc.) eines erwachsenen Menschen der Blutgruppe O Rh+ nach Behandlung mit spezifischen Antiseren in verschiedenen Konzentrationen (1/2 Teil, 1 Teil usw.). Rechte Spalte: Immunelektrophoretische Ergebnisse = Kontrolluntersuchung, inwieweit die Absorption der jeweiligen Gammaglobuline durch die Antiseren gelang.

2 Std. 37°C/24 Std. 6°C = Dauer und Temperaturbereich der Inkubation

(8) etc. = unkorrigierter Titerwert (siehe dazu Abschnitt 5.1. Methodik)

2.1.2. Serum von Neugeborenen

2.1.2.1. Behandlung mit Anti-Gammaglobulin-Seren von Kaninchen

Nachfolgend sind die Ergebnisse aufgeführt, die bei Behandlung der Seren von Neugeborenen mit spezifischen Anti-Gammaglobulin-Seren in verschiedenen Verhältnissen und Konzentrationen erhalten wurden. Da von Neugeborenen nur sehr wenig Serum gewonnen werden kann, wurden Fraktionen über DEAE etc. nicht durchgeführt.

Tabelle 32

PNAK Titer im Serum eines Neugeborenen, nach Behandlung mit spezifischen Antisera in verschiedener Menge:

Behandlung des Serums:	Hämagglutination gegen:								Immunoelektrophorese:		
	(2 Std. 37°C)						(24 Std. 6°C)				
	K		H		P		K		IgM	IgG	IgA
unbehandelt	64		16		16		64		Ø	+	Ø
behandelt mit:											
1 Teil Anti IgM	(8+)	24	(2+)	4	(4)	6	(8+)		Ø	+	Ø
1 " Anti IgM	(32+)	64			(4)	6	-				
1 " Anti IgM	(16+)	64	(0)	0	-		-				
4 "(e)Anti IgM	8	40			(8)	38	-		Ø	+	Ø
1 " Anti IgG	(32)	64	(2+)	4	(4)	4	(32)	64			
1 " Anti IgG	(32+)	64			(4)	4	-				
1 "AIgG vorabs.	(16)	30	(2)	2	-		-				
1 " Anti IgG	(32)	64	(8)	16							
2 " " Anti IgG	(32)	64	(2)		(4)	4	(16)	46	Ø	+	Ø
2 " " Anti IgG	(16+)	64	(2+)	4							
3 " " Anti IgG	(16)	62	(4)	2					Präz.+		
4 " " Anti IgG	(16)	64			(4)	4			Ø	Ø	Ø
6 " " Anti IgG	(4)	28	(0)	0					Präz.++		
9 " " Anti IgG	(4)	40	(0)	0					" ++		
1 " Anti IgA	(16+)	46	(2+)	4	(4)	8	(32)	64	Ø	+	Ø
1 " Anti IgA	(32)	64			(4)	8					
1 "AIgA vorabs.	(32)	64	(4+)	12							
1 Teil Anti IgA	(32)	64	(4+)	8							
2 "(e)Anti IgA	(16+)	64	(2+)	4							
4 " " Anti IgA	(16)	64	(2+)	4							
1 " Anti IgD	(32)	64			(8)	8					
1 " Anti IgD	(32+)	64	(8+)	16							
2 " " Anti IgD	(32)	64	(4+)	20							
4 " " Anti IgD	(8)	38			(8)	8					

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 32

Hämagglutination gegen: (2 Std. 37°C)					Hämagglutination gegen: (2 Std. 37°C)				
	K	H	P			K	H	P	
1 T. AIgE	(16+)	48	(8)	14	4 T. AIgE	(16+)	64	(4)	4 (4) 18
1 T. AIgE	(16)	32	(8+)	24	1 T. A ₂	(32)	64	(8)	0
2 T. AIgE	(16)	48	(4+)	18	4 T. A ₂	(8)	38	(4)	4 (8) 0

Verhalten der PNAK Titer verschiedener Spezies im Serum eines Neugeborenen der Blutgruppe O Rh+, nach Behandlung mit spezifischen Antiseren verschiedener Konzentrationen (+ 1 Teil, 2 Teile, 4 Teile etc.)

Präz. +/++/+++ = bei Behandlung des Serums mit Antiserum war ein verschieden starker Präzipitatniederschlag zu erkennen. Vorabs. = das Antiserum wurde vor der Verwendung im Test mit Erythrozyten des jeweiligen Tieres behandelt, um die PNAK des Antiserums als Fehlerquelle auszuschließen (siehe auch Legende zu Tabelle 31).

Nachstehend die Abbildungen von drei Immunelektrophoresen verschiedener Gammaglobulinfraktionen, die zur Kontrolle über die erfolgte Absorption durchgeführt wurden:



Abb.11 Immunelektrophorese der Gammaglobulinfraktion (IgM, IgA und IgG) nach $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -Behandlung (gegen Anti-Gammaglobulin-Serum von Kaninchen)

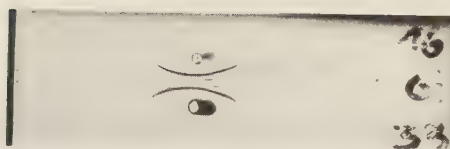


Abb.12 Immunelektrophorese der IgG-Fraktion, nach Auftrennung über DEAE (gegen Anti-Gammaglobulin-Serum von Kaninchen)

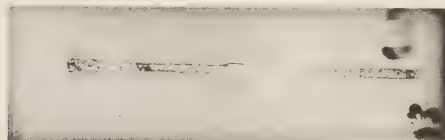


Abb.13 Immunelektrophorese der IgM-Fraktion, nach Auftrennung über Biogel (gegen Anti-Gammaglobulin-Serum von Kaninchen)

2.1.2.2. Behandlung des Neugeborenen-Serums mit 2-Mercaptoaethanol

Tabelle 33

Verhalten der PNAK Titer nach Inkubation des Serums mit verschiedenen Konzentrationen von 2-Mercaptoaethanol:

Hämagglutination gegen:	K		H		P		Bemerkungen
unbehandeltes Serum	64		16		8+		Die Inkubation
⇒ 0,05 mol ME	(32+)	64	(8+)	16	(0)	0-2	erfolgte 2 Std.
⇒ 0,10 mol ME	(32)	48	(2)	4	(0)	0-2	bei 37°C
⇒ 0,20 mol ME	(8)	24	(2)	6	(0)	0-4	

Erläuterungen siehe Tab. 29

2.1.3. Milch von stillenden Müttern

Nachstehend (Tab. 34) sind die Ergebnisse aufgeführt, die bei der Gamma-globulinbestimmung der PNAK menschlicher Muttermilch gefunden wurden.

2.1.3.1. Behandlung der Muttermilch mit Antiseren von Kaninchen

Tabelle 34

Verhalten der PNAK Titer in der Milch zweier Mütter, nach Behandlung mit Antiseren:

	Milch a					Imm. M G A	Milch b		
	(2 Std.37°C)			(24 Std.6°C)	(2 Std.37°C)				
	K	H	P	K	K		P		
U	2000	8	16	2000	∅ ∅ +	500	64+		
2 IgM	(250+)	1000	(0)	0 (8) 16	(250) 750	∅ ∅ +	(128) 400	16 (50)	
4 "							(128) 500	16 (80)	
2 IgG	(250+)	1000	(0)	0 (8) 16	(500) 1500	∅ ∅ +	(128) 400	(16) 50	
4 "							(64) 500	(8) 40	
2 IgA	(500)	1500	(0)	0 (8) 16	(1000)2000	∅ ∅ ∅	(128) 400	(16) 50	
4 "	(128)	600	(0)	0		∅ ∅ ∅	(128) 500	(16) 80	
1 IgE	(1000)	2000	(8+)	8					
2 "	(500)	1500	(4)	8			(128) 400	(16) 50	
4 "							(64) 300	(8) 40	
1 IgD	(500)	1000	(4)	4					
2 "	(500)	1500	(2+)	4			(128) 400	(16) 50	
4 "							(128) 500	(16) 80	
1 M+G	(250)	750	(0)	0 (8) 16	(250) 750				
1 M+A	(128)	400	(2)	0 (8) 16	(250) 750				
2 β ₂							(128) 400	(16) 16	
4 "							(64) 300	(8) 0	

Erläuterungen: Milch a, Milch b = Milch von zwei verschiedenen Müttern, U = unbehandelte Milch, 2 IgM/4 IgM = Milch behandelt mit 2 Teilen/4 Teilen Anti IgM-Serum von Kaninchen, 1 M+A = behandelt mit je 1 Teil Anti IgM + 1 Teil Anti IgG-Serum, Imm. = Immunelektrophorese, M/G/A = nachweisbare Präzipitate in der Immunelektrophorese mit Anti IgM, IgG oder IgA

siehe auch Legende zu Tabelle 31

2.1.3.2. Behandlung der Muttermilch mit 2-Mercaptoaethanol

Tabelle 35

Verhalten der PNAK Titer in menschlicher Milch, nach Behandlung mit verschiedenen Mengen von 2-Mercaptoaethanol:

Hämagglutination gegen:	K		H		P	
Milch unbehandelt	1000		8		8+	
=) 0,05 und ME	(64)	80	(2)	4		
=) 0,10 und ME	(32)	45	(2)	4	(16)	16
=) 0,20 und ME	(8)	24	(0)	0-4	(0)	0-4

Erläuterungen siehe Tab. 29 und 31

2.1.4. Zusammenfassung der Absorptionsergebnisse

Die Fraktionierung über DEAE und Sephadex bzw. Biogel macht deutlich, daß sich die PNAK des Erwachsenen zum allergrößten Teil in der IgM Fraktion finden. Selten werden PNAK auch in anderen Fraktionen gefunden.

Behandlung mit 2-Mercaptoaethanol und ebenso die Behandlung mit Anti-IgM-Seren von Kaninchen senkt die PNAK Titer im Serum Erwachsener stark.

Eine Beeinflussung der PNAK Titer im Serum von Neugeborenen gelang jedoch kaum. Nur sehr hohe Konzentrationen von Anti-IgG erniedrigten die PNAK Titer (Effekt der Serumverdünnung?).

Die Titer gegen Hunde- und Pferde-Erythrozyten, die bereits im unbehandelten Serum relativ niedrig sind, konnten dagegen mit fast allen benützten Antisera verringert werden.

Im Serum des Neugeborenen war immunoelektrophoretisch nur IgG, in der Milch nur IgA nachweisbar.

In der Milch konnten nur die PNAK gegen Hund mit Anti-IgM gesenkt werden. Im Gegensatz zum Serum kann aber der PNAK Titer gegen Kaninchen auch mit 2-Mercaptoaethanol erniedrigt werden. Die nachstehende Abbildung gibt einen zusammenfassenden Überblick der Absorptionsergebnisse.



Abb.14

Milch

Neugeborenes

Erwachsener

Absorption der PNAK aus der Milch, dem Serum eines Neugeborenen und eines Erwachsenen, mit spezifischen Antiseren oder 2-Mercaptoethanol

K, H, P = Hämagglutination gegen Kaninchen-,Hunde- und Pferde-Erys; N = un-behandeltes Serum; M = mit Anti-IgM, G = mit Anti-IgG, Ü = mit den übrigen Antiseren (Anti-IgD, IgE und Anti- β_2) behandelt; ME = mit 2-Mercaptoethanol behandelt.

Alle Einzelergebnisse einer Behandlungsreihe sind summarisch dargestellt. Sofern die Ergebnisse signifikant voneinander abweichen, ist dies deutlich gemacht (z.B. G·x = Inkubation mit größeren Mengen an Anti-IgG-Serum führte zu einer Titer senkung bis auf 1:38 oder A = Behandlung mit Anti-IgA-Serum senkte den Titer stärker als mit den übrigen Antiseren).

2.2. Hundeserum

Bei der papierelektrophoretischen Fraktionierung von Hundeserum (Tab.36), liefen die PNAK zum allergrößten Teil in der Gammaglobulinbande, ein kleiner Teil erschien jedoch auch in der Beta-Fraktion.

Tabelle 36

Verhalten der PNAK Titer im Hundeserum nach papierelektrophoretischer Auftrennung:

Hämagglutination gegen:	MB	H	S	P	Eiweißkonzentration
Hundeserum unbehandelt	8 - 16	0	32	500	
Albumin Bande	0	0	0	0	ca. 3%
α_1 Globulin "	0	0	0	0	ca. 1%
α_2 " "	0	0	0	0	ca. 1%
β " "	0	0	0	32	ca. 1%
γ " "	0	0	2	250	ca. 1%

2.3. Schweineserum

Ähnlich dem menschlichen Serum finden sich auch die PNAK vom Schwein nach Auftrennung des Serums über Sephadex (Tab.37) in der Fraktion, die IgM enthält.

Tabelle 37

PNAK Titer nach DEAE- und Sephadex-Fraktionierung von Schweineseren:

	MB	H	S		MB	H	S
unbehandeltes Serum	32	64	0	2.Peak nach DEAE	16	32	0
Überstand nach NH_4SO_4	0	0	0	1.Peak nach Sephadex (= IgM)	16	32	0
1.Peak nach DEAE (= IgG)	0	0	0	2.Peak nach Sephadex (= IgA)	0	0	0

3. Einfluß des Futters auf die Bildung der PNAK

In dem Bestreben, den Auslösemechanismus der PNAK zu finden, wurde zuerst untersucht, ob die Zusammensetzung des Futters einen Einfluß hat. Dabei sollte so wenig wie möglich in die physiologische Ernährung der Tiere eingegriffen werden. Deshalb wurde spezifisches Futter nicht zwangsweise über eine Sonde gefüttert, sondern konnte ad libitum aufgenommen werden und wurde nur soweit verändert wie die Tiere es noch bereitwillig fraßen.

3.1. Definierte Fleischfütterung

3.1.1. Hunde



Abb.15 Die Schäferhundfamilie, die als Kontrollgruppe diente

Die Untersuchung der PNAK Titer bei jungen Dackeln und Schäferhunden, die beginnend ab der 7. Lebenswoche (Schäferhunde bereits ab der 4. Woche) mit nur einer Fleischart gefüttert worden waren, zeigte (Tab.38 bis Tab.42), daß keine spezifische Erhöhung der PNAK Titer gegen das verfütterte Fleisch auftritt. Auch zwischen den einzelnen Hundegruppen war kein signifikanter Unterschied in der Titerhöhe am Ende der Untersuchungsperiode festzustellen. Auffallend ist, daß die mit Pferdefleisch gefütterten Tiere sehr hohe

PNAK Titer gegen menschliche Erythrozyten der Blutgruppe B rh-, nicht aber gegen menschliche Erythrozyten der Blutgruppe O Rh+ bilden.

Tabelle 38

PNAK gegen MB:

Alter:	6 Wo	7 Wo	8 Wo	10 Wo	12 Wo	14 Wo	16 Wo	52 Wo
Cetan	8			64		16+		
Claus	4			8+		64		
Cauda	8			64+		16		
Cinde	4+(2,65)	((3,8))	((5,0))	500(6,2)	((5,6))	64 (5,1)	((5,1))	
Nr.1a	16	32	64	128	64	128+	32	
" 1b	0	4- (8)	8	8	32	128	16	8
" 1c	2+ (2,2)	- (3,7)	2 (3,3)	16 (4,7)	32 (5,3)	16 (5,8)	16+ (4,5)	8(3,0)
" 1d	4+	32	16	32	64	250	16	
" 1e	16+	128	64	128+	500	128+	250	
" 1f	128(4,7)	- (6,0)	64 (5,3)	250 (6,8)	128(7,3)	128 (7,5)	64 (8,8)	

Tabelle 39

PNAK gegen MO:

Alter:	6 Wo	7 Wo	8 Wo	10 Wo	12 Wo	14 Wo	16 Wo	52 Wo
Cetan	8			2		8		
Claus	4			4		16		
Cauda	8			8		8		
Cinde	8 (2,7)	((2,4))	((2,1))	2+ (1,9)	((2,6))	8 (3,2)	(3,2)	
Nr.1a	4	2	2	8	16	8	8	
" 1b	4	2+	8	8	32	8	4	8
" 1c	2 (1,7)	- (1,2)	2 (1,7)	4 (2,7)	32+(4,8)	16+(3,5)	8(2,7)	16(3,5)
" 1d	2+	2	2	4		8	16	
" 1e	4	4+	2	4	16+	16		
" 1f	2+(1,7)	- (1,75)	4 (1,3)	4+ (2,2)	64 (3,5)	8 (3,3)	8(3,5)	

Legende zu Tab.38 und 39 siehe Tabelle 42

Tabelle 40

PNAK gegen S:

Alter:	6 Wo	7 Wo	8 Wo	10 Wo	12 Wo	14 Wo	16 Wo	52 Wo
Cetan	4+		128		250			
Claus	2+		250		64			
Cauda	16		250		32			
Cinde	16 (3,0) ((4,7))	((6,4))	500 (8,0) ((7,1))	32 (6,0) ((6,0))				
Nr.1a	2	2	2	4+	128	500	1000	
" 1b	0+	8	-	8+	16	128	1000	
" 1c	0 (0,5) - (2,0)	16+(2,8)	4+ (2,8)	16+(5,2)	32 (7,0)	32 (8,3)		
" 1d	0	8	2	2+	8+	1000	250	
" 1e	0	4+	4	8+	16	128+	64	
" 1f	0+ (0,2) - (2,7)	0 (1,0)	8 (2,7)	128(4,8)	128 (8,2)	64+(6,8)		

Legende siehe Tabelle 42

Tabelle 41

PNAK gegen P:

Alter:	6 Wo	7 Wo	8 Wo	10 Wo	12 Wo	14 Wo	16 Wo	52 Wo
Cetan	64+		500		250			
Claus	16+		128+		250			
Cauda	500+		500		250			
Cinde	250(7,1) ((7,6))	((8,1))	500(8,6)	((8,3))	250(8,0) ((8,0))			
Nr.1a	8	8	32	64	16+	128	250	
" 1b	2	4+	4	16	16	32	128	1000
" 1c	0 (1,3)	-(2,8)	16(3,7)	16 (4,7)	32(4,5)	16(5,3)	128(7,3)	64
" 1d	0+	8+	2	64+	4+	1000	32	
" 1e	0	16	2	8+	128	32	250	
" 1f	4+ (1,0)	-(3,8)	250(3,3)	64 (5,3)	64(5,2)	250(7,7)	500(7,3)	

Legende siehe Tabelle 42

Tabelle 42

PNAK gegen K:

Alter:	6 Wo	7 Wo	8 Wo	10 Wo	12 Wo	14 Wo	16 Wo
Cetan	64			32		32	
Claus	16			16		64	
Cauda	32+			64		250	
Cinde	16 (4,7) ((5,0))	((5,1))		64 (5,2) ((5,7))		64 (6,2) ((6,2))	
Nr. 1a	16	4	8	16	32	32	32
" 1b	4	8	8	8	250+	32	500
" 1c	2+ (2,8)-(2,5)	2 (2,3)		32 (4,0)	32(5,7)	16 (4,7)	250(7,3)
" 1d	8	4+	16	64		32	250
" 1e	4	32	16	16+	32	16	16
" 1f	8 (2,8)-(3,75)	128(5,0)	8 (4,5)	128(6,0)	16 (4,3)	32 (5,7)	

Zu Tabelle 38 bis Tabelle 42:

Die Tabellen zeigen das Verhalten der Titer zweier Gruppen junger Dackel (1a-1c und 1d-1f) aus demselben Wurf, vor und nach Beginn mit definierter Fleischfütterung (ab Ende der 7. Woche). Als Kontrolltiere wurden Schäferhunde (Cetan, Claus, Cauda, Cinde) im selben Alter mitgeführt, die jedoch gemischtes Futter erhielten (etwa ab 4.-5. Woche). Die Zahlen in den Klammern geben die Mittelwerte der negativen Logarithmen der Titer zur Basis 2 an. Werte in doppelten Klammern wurden interpoliert. Die Tiere Nr. 1a-1c bekamen nur Schweinefleisch, Tiere Nr. 1d-1f nur Pferdefleisch.

Die nachstehende Abbildung (Abb.16) gibt eine schematische Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Fütterungsversuche mit Hunden. Besonders deutlich wird hierbei, daß zwischen den beiden Dackelgruppen - obwohl streng unterschiedlich gefüttert - im PNAK Titer gegen MB, MD, Schwein, Pferd und Kaninchen keine signifikante Titerdifferenz besteht. Die Titer gegen Pferd und Schwein weichen allerdings stark von der Schäferhundgruppe ab. Die höheren Titerwerte der Schäferhundgruppe sind jedoch etwa um die 14. Woche eingeholt. Bei der Auswertung der nachstehenden Graphik muß bedacht werden, daß die Titer logarithmisch aufgetragen sind. Dadurch erscheinen die zwischen Anfang und Ende der Untersuchungsperiode auftretenden PNAK Titerdifferenzen nur relativ gering, obwohl sie - absolut gesehen - sehr beträchtlich waren.

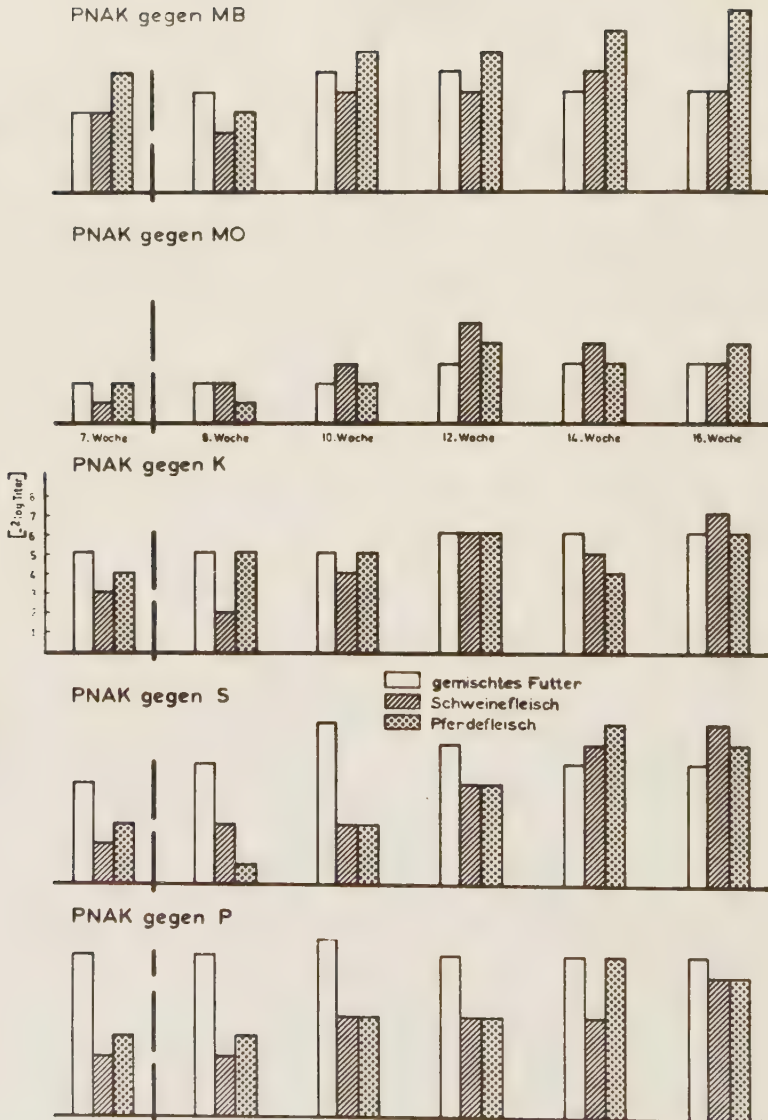


Abb.16 Entwicklung der PNAK Titer junger Dackel und Schäferhunde, die ab Ende der 7. Woche unterschiedlich mit definiertem Fleisch gefüttert worden waren (siehe auch Leg. zu Tab.42)

3.1.2. Ratten

Wie im methodischen Teil ausführlich beschrieben, wurden auch Ratten unterschiedlicher Altersstufen und Rassen mit verschiedenen Fleischsorten gefüttert.

Tabelle 43

Zusammenfassung der gefütterten Rattenstämme, Futtersorten und serologischen Tests:

Futterart	Rasse	n	Häm	Lysis	Oucht	Bemerkungen
Katzenfleisch	Sprague	6(B)	0-2	+ / ++	Ø	
Hundefleisch	Dawley	6(B)	0-2	+ / ++	Ø	
Pferdefleisch	"	6(B)	0-2	+ / ++	Ø	
Schweinefleisch	"	6(B)	0-2	+ / ++	Ø	
Körnerfutter	"	6(B)	0-2	+ / ++	Ø	← 1 Tier besaß gegen H einen Titer von 1:1250
Hundefleisch	Bd6+Bd9	6	0-2	+ / ++	Ø	
Pferdefleisch	(3) „ (3)	6	0-2	+ / ++	Ø	
Schweinefleisch	"	6	0-2	+ / ++	Ø	← 1 Tier gegen MB 1:4 ← 1 " " P 1:4
Altromin Pellets	"	6	0-2	+ / ++	Ø	← 1 Tier gegen MB 1:16
Rattenfleisch	"	6	0-2	+ / ++	Ø	← 1 Tier gegen MB 1:4

Die Tabelle gibt eine Zusammenfassung der untersuchten unterschiedlichen Rassen von Ratten, der Versuchstierzahl und der Art des Futters. Untersucht wurden in der Regel je 3 junge und 3 alte Tiere.

(B) = je 2 geboosterte Tiere; das waren Ratten, die nach einer Pause von 3 Monaten (während der sie normales Körnerfutter erhielten), weitere 3 Monate mit Fleisch gefüttert wurden. Die Ergebnisse in den Spalten: Häm, Lysis und Ouchterlony sind Durchschnittswerte der PNAK Titer aller Tiere gegen MB, P, H, S und R. PNAK Titer, die aus diesem Bereich herausfielen, sind extra angeführt.

Ergebnis:

Weder die Titer der hämagglutinierenden, lysierenden, noch präzipitierenden PNAK zeigten einen signifikanten Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen.

In der aktiven Hämagglutination liegen alle Titer zwischen 1:0-2, in dem Hämolyseintest zwischen + und ++ und im Ouchterlony-Test konnten keine Präzipitate entdeckt werden. Auch das Aussetzen mit der spezifischen Fütterung und die erneute Fütterung nach einer 3 monatigen Pause brachten keinen Unterschied. Lediglich bei 5 Tieren konnten höhere PNAK Titer als gewöhnlich festgestellt werden.

3.2. Antigenfreies Futter

Tabelle 44

Zusammenfassung der Ergebnisse von SPF Ratten, die normales und verschieden synthetisches Futter erhalten hatten:

Test-Antigen:		MB		H		P		S	
Futter	n	Häm	Lysis Ouch	Häm	Lysis Ouch	Häm	Lysis Ouch	Häm	Lysis Ouch
vollsynth. Futter	10	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø
halbsynth. Futter	10	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø
normales Futter	10	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø	0-2 +/++	Ø

Legende siehe Tabelle 43

Ein Unterschied zwischen den PNAK Titern von Ratten, die normales Futter und solchen die synthetisch aufgebautes Futter erhielten, kann trotz verschiedener angewendeter Untersuchungsmethoden nicht festgestellt werden.

3.3. Wild lebende Wanderratten

Tabelle 45

Titer im Serum von 2 gefangenen wilden Wanderratten:

Hämagglutination gegen:	MB	MO	H	P	S	K
Tier Nr. 1	0	0	0+	2	0	0
" " 2	2	0	0	0	0+	0

Auch die wilden Ratten haben keine anderen PNAK Titer als die mit Altromin-Pellets gefütterten Labor-Inzuchttiere (Tab. 45).

3.4. Einfluß der Säugezeit auf die Entwicklung der PNAK

Untersuchungen darüber, welche Bedeutung bei der PNAK Produktion dem Zeitpunkt der Futterumstellung - von Milch auf Fleisch bzw. Körnerfutter - zukommt, zeigten, daß bei Ferkeln die 5 Wochen mit Milch gefüttert wurden und solchen, die nur 2 Wochen Milch bekamen und anschließend Altromin-Pellets, kein Unterschied in der Höhe der PNAK Titer besteht. Im Gegensatz dazu sind die PNAK Titer der keimfreien, wie auch die konventioneller Hunde, insbesondere die Titer gegen Pferd und Schwein bei den länger mit Milch gefütterten Tieren deutlich niedriger.

Tabelle 46

Verhalten der PNAK Titer im Serum von Schweinen und Hunden, nach verschieden langer Aufzucht der Tiere mit Milch:

Tierart	n	Milch	A	MB	MO	P	S	H
SPF Schweine								
Ferkel Gruppe A	2	2.Woche	5.	4,0	n.t.	3,0	-	0
Ferkel Gruppe B	2	5.Woche	5.	3,7	n.t.	3,5	-	0
"keimfreie" Hunde								
Beagles K ₁	6	7.Woche	10.	3,1	3,8	7,3	7,4	-
Beagles K ₂ u. K ₃	13	9.Woche	10.	2,8	1,4	4,7	5,4	-
konventionelle								
Schäferhunde S	4	5.Woche	10	6,2	1,9	8,6	8,0	-
Dackel D	6	7.Woche	10	5,8	2,5	5,0	2,8	-
Beagles B ₁	7	7.Woche	10	4,3	1,5	7,1	5,7	-
Beagles B ₂	4	5.Woche	10	4,6	3,9	9,5	5,0	-

A = Lebensalter in Wochen zum Zeitpunkt der Titerbestimmung, Milch = Säugezeit bis zum Ende der x. Woche. Titerangaben erfolgten als negativer Logarithmus zur Basis 2.

Zu den SPF-Ferkeln siehe auch Abschnitt 4.2., zu den Hunden Abschnitt 4.1.

4. Keimfreie Tiere

Da die Ergebnisse der Fütterungsversuche für sich alleine noch keine definitiven Aussagen über evtl. Auslösemechanismen der PNAK Produktion zulassen, wurde weiterhin der Einfluß von Bakterien untersucht. An erster Stelle waren es die PNAK Titer gnotobiotischer Säugetiere, die besonders interessant erschienen.

4.1. Keimfreie Hunde

Besonders signifikante Titerunterschiede wurden zwischen "keimfreien" Hunden und normal aufgezogenen Tieren gefunden (Tab.47-50 und Abb.17-20). Dabei war es sehr interessant, daß nur bei den PNAK Titern gegen MB und MO Unterschiede auftraten. Um Fehlerquellen auszuschließen, wurden viele Titerbestimmungen wiederholt und insbesondere die Titer gegen einzelne Untergruppen bei MB bestimmt (Tab.47).

4.1.1. Ergebnisse

Tabelle 47

Verhalten der PNAK gegen MB (cde, cdE, CDE) im Serum von gnotobiotischen Hunden und gleichaltrigen konventionellen Tieren:

Gr	N	A: 6	7	8	10	11	12	14	16
K ₁	1a	0/0/0		0/0/0	16/16/16		4+	4+	16+
	1b	0/0/0			8/8/8		8	8	8
	1c	0/0/0			8/8+/8		0	0	4+
	1d	0/0/0			4/4+/8		16	2	4+
	1e	0/0/0			8/8/8				
	1f	0/0/0			-		8	0	8+
		m0,0		m0,0	m3,1		m2,5	m1,3	m3,2
K ₂	2a	0/0/0			2/2/2			2+	
	2b	0/0/0			2/2/2			8+	
	2c	0/0/0			8+/8+/16			8	
	2d	0/0/0		0/0/0	8/8/8			2	
	2e	0/0/0		0/0/0	-			-	
		m0,0		m0,0	m2,1			m2,0	
K ₃	3a	0/0/0		0/0/0	2/2/2				
	3b	0/0/0			8/8/4				
	3c	0/0/0			32/64/64				
	3d	0/0/0			16/8/8				
	3e	0/0/0			16/32/16		8 (hämo-perfundierte 16+ Tiere s. Kap. C 4.4.)		
	3f	0/0/0			-				
	3g	0/0/0		0/0/0	-				
	3h	0/0/0			-				
		m0,0		m0,0	m3,5				
		x0,0		x0,0	x3,0		x2,5	x1,6	x2,2
		s0,0		s0,0	s1,4		s1,5	s1,3	s0,8

Fortsetzung von Tabelle 47:

Gr	N	A:	6	7	8	10	11	12	14	16
S	4a		4/8/8			64/64/64			16+	
	4b		4/4/4			8/8/8			64	
	4c		8/8/8			64/64+/64			16	
	4d		4+/4+/4+			250/500/500			64	
D	5a		16	32	64/64/64	128/128/64		64	128+	32
	5b		0/0/0	4+	8/8/8	8/8/8		32	128	16
	5c		2+	-	2/2/2	16/16/16		32	16	16+
	5d		4+	32/32/32	16/16/16	16/32/32		64	250	16
	5e		16+	128	250/64/64	128+		500	128+	250
	5f	128/128/128	-	128/64/64	250/250/128			128	128	64
			$\bar{x}3,0$	$\bar{x}4,9$	$\bar{x}4,3$	$\bar{x}5,9$		$\bar{x}6,3$	$\bar{x}6,2$	$\bar{x}5,3$
			s1,9	s1,9	s2,1	s1,9		s1,5	s1,6	s1,6
B ₁	6a						8			
	6b						32			
	6c						8			
	6d						64			
	6e						16			
	6f						16			
	6g									
							m4,25			
B ₂	7a		16				32			
	7b		4				32			
	7c		64				64			
	7d		8				16			
							m5,0			
			$\bar{x}3,8$				$\bar{x}4,6$			
			s1,7				s1,7			

Erläuterungen:

Gr = Gruppe, N = Nummer des einzelnen Tieres, A = Alter in Wochen, K₁ bis K₃ = keimfreie Tiere (siehe dazu S. .), S, D + 8 = konventionelle Tiere, S = Schäferhunde, D = Dackel, B₁ + B₂ = Beagles (siehe B 2.2.1. und C 5.7.)

Die keimfreien Beagles wurden bis zur 10. Woche (Gruppe K₂ und K₃) bzw. bis zur 12. Woche (Gruppe K₁) im Isolator gehalten. Sie bekamen dann bis zur 8. Woche (Gruppe K₁) bzw. bis zur 10. Woche (Gruppe K₂ und K₃) Rindermilchkonzentrat, ab dann Dosenfleisch.

0 / 2 / 0 etc. = Häm mit Erythrozyten der Blutgruppe B, jedoch unterschiedlichem Mosaik: 1.Wert = PNAK gegen ode, 2.Wert = PNAK gegen cDe, 3.Wert = PNAK gegen CDE

m = Mittelwert einer Gruppe, $\bar{x}$ = Mittelwert aller keimfreien bzw. aller konventionellen Tiere, s = Standardabweichung

Tabelle 48

Verhalten von MO-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK im Serum keimfreier und konventioneller Hunde verschiedener Altersstufen:

A:	6	8	10	11	12	14	16	A:	6	8	10	11	12	14	16
1a	0	0			2+	2	2	4a	8		2			8	
1b	0		16		16+	4	32	4b	4		4			16	
1c	0		8+		0+	0+	16	4c	8		8			8	
1d	0				8	-	32+	4d	8		2+			8	
1e	0							5a	4	2	8		16	8	8
1f	0				0	0	0	5b	4	8	8		32	8	4
m0,0 m0,0 m3,8 m1,7 m0,9 m3,1								5c	2	2	4		32+	16+	8
2a	2		0			0		5d	2+	2	4		-	8	16
2b	2		2			0		5e	4	2	4		16+	16	-
2c	-		16			0		5f	2+	4	4+		64	8	8
2d	0+	2	2			0		$\bar{x}2,1$ $\bar{x}1,5$ $\bar{x}2,2$ $\bar{x}5,3$ $\bar{x}3,35$ $\bar{x}3,0$ $s0,7$ $s0,7$ $s0,6$ $s0,8$ $s0,6$ $s0,7$							
2e	0	2	-					6a	4						
m0,6 m1,0 m1,5 m0,0								6b	-						
3a	0	0	0+					6c	2						
3b	0		4					6d	-						
3c	0		2					6e	-						
3d	-		2		4(perf. Tier)			6f	-						
3e	0		4		4 "			6g	-						
3f	2		-					m1,5							
3g	-		-					7a	16						
3h	0							7b	8						
m0,2 m0,0 m1,3								7c	16+						
$\bar{x}0,2$ $\bar{x}0,3$ $\bar{x}1,8$ $\bar{x}1,9$ $\bar{x}0,4$ $\bar{x}3,1$ $s0,4$ $s0,4$ $s1,4$ $s1,8$ $s0,6$ $s2,5$								7d	16						
								m2,6							
								$\bar{x}3,1$ $s1,1$							

Die Titerergebnisse der 7. Woche konnten in die Tabelle nicht aufgenommen werden: Tier Nr. 5a = 1:2, 5b = 1:2+, 5c = n.t., 5d = 1:2, 5e = 4+, 5f = n.t., $\bar{x}1,5$, $s0,7$; 7a = 1:4, 7b = 1:4, 7c = 1:8, 7d = 1:4, $\bar{x}2,3$, $s0,5$;

Erläuterungen siehe Tabelle 47

Tabelle 49

Verhalten von P-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK im Serum keimfreier und konventioneller Hunde verschiedener Altersstufen:

A:	6	8	10	11	12	14	16
1a	8	16	128		32+	16	32
1b	8+		250		250	64	16+
1c	8+		250		128	16	64
1d	16		64		64	32	32
1e	8		64+				
1f	64				32	8+	16
	m3,6	m4,5	m7,0		m6,3	m4,5	m4,9
2a	8		64			16	
2b	16		16			8	
2c	16		8+			8	
2d	64	8+	8+			8	
2e	8	8					
	m4,0	m2,8	m4,3			m3,2	
3a	4	8	16+				
3b	8		8				
3c	4		16+				
3d	16		64+	128	(perf. Tier)		
3e	4		128	1000	"		
3f	4						
3g	4						
3h	8						
	m2,5	m3,0	m5,1				
	x3,3	x3,1	x5,5		x6,3	x4,0	x4,5
						s1,0	

A:	6	8	10	11	12	14	16
4a	64+		500				250
4b	16+		128				250
4c	500+		500				250
4d	250		500				250
5a	8	32	64		16+	128	250
5b	2	4	16		16	32	128
5c	0	16	16		32	16	128
5d	0+	2	64+		4+	1000	32
5e	0	2	8+		128	32	250
5f	4+	250	64		64	250	500
	x3,6	x3,5	x6,5		x4,8	x7,1	x7,3
						s1,8	
6a					250		
6b					32		
6c					128		
6d					128		
6e					500		
6f					64+		
6g					128		
					m7,1		
7a					1000		
7b					1000		
7c					500		
7d					500		
					m9,5		
					x7,9		
					s1,6		

Die Titerergebnisse der 7. Woche konnten in die Tabelle nicht aufgenommen werden: 5a = 1:8, 5b = 1:4+, 5c = n.t., 5d = 8+, 5e = 16, 5f = n.t., 7d = 1:16, 7b = 1:32, 7c = 1:128, 7d = 1:32; $\bar{x}$ 5,3;

Erläuterungen siehe Tabelle 47

Tabelle 50

Verhalten von S-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK im Serum keimfreier und konventioneller Hunde verschiedener Altersstufen:

A:	6	8	10	11	12	14	16	A:	6	8	10	11	12	14	16
1a	0	16	250		128	64	64+	4a	4+		128			250	
1b	2+		250		500	250	128	4b	2+		250			64	
1c	8		128		32	32	64	4c	16		250			32	
1d	0		64		128	-	128+	4d	16		500			32	
1e	2+		250		-	-	-	5a	2	2	4+		128	500	1000
1f	4		-		250	128+	128+	5b	0+	8	8+		16	128	1000
	m1,3	m4,0	m7,4		m7,2	m6,6	m6,9	5c	0	16+	4+		16+	32	32
2a	64		32			32		5d	0	2	2+		8+	1000	250
2b	8		32			32		5e	0	4	8+		16	128+	64
2c	-	4	2			16		5f	0+	0	8		128	128	64
2d	32	32	64			64+			$\bar{x}1,4 \quad \bar{x}1,9 \quad \bar{x}4,9 \quad \bar{x}5,0 \quad \bar{x}6,9 \quad \bar{x}7,6$ $s2,7$						
2e	32	32	64			64+		6a					32		
	m4,7	m3,5	m4,2			m5,1		6b					16		
3a	2	32	250					6c					250		
3b	4		64+					6d					64		
3c	16		128					6e					128		
3d	-		128(4000	perf. Tier)				6f					250		
3e	4		16(4000	"	)			6g					4		
3f	0								m5,7						
3g	0							7a					128		
3h	32							7b					16		
	m2,0	m5,0	m6,6					7c					16		
	$\bar{x}2,3$	$\bar{x}4,0$	$\bar{x}6,2$		$\bar{x}7,2$	$\bar{x}6,1$	$\bar{x}6,9$	7d					32		
			s2,0						m5,0						
									$\bar{x}5,4$						
									s1,9						

Die Titerergebnisse der 7. Woche konnten in die Tabelle nicht aufgenommen werden: 5a = 1:2, 5b = 1:8, 5c = n.t., 5d = 1:8, 5e = 4+, 5f = n.t., $\bar{x} 1,4$; 7a = 1:4, 7b = 1:2, 7c = 1:4, 7d = 1:8, $\bar{x} 2,0$;

Erläuterungen siehe Tabelle 47

In den nachfolgenden Abbildungen (Abb. 17-20) sind die Ergebnisse der Untersuchungen keimfreier Tiere und gleichaltriger Kontrolltiere graphisch dargestellt.

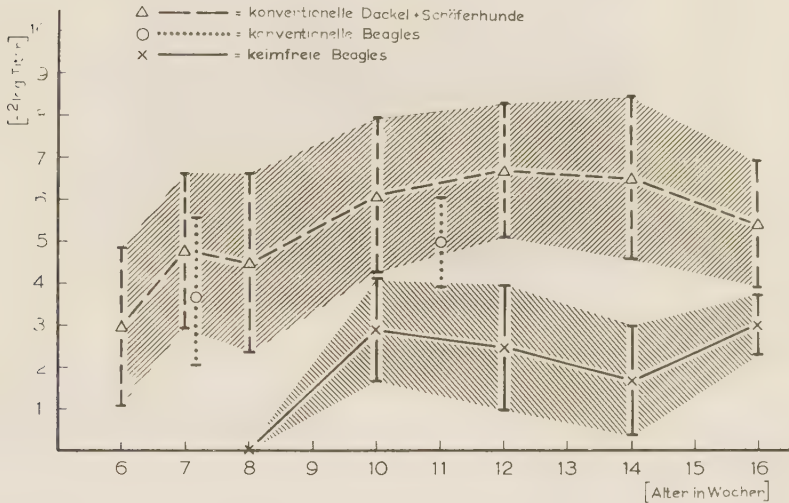


Abb.17 PNAK Titer gegen MB bei keimfreien (1a-3h) und konventionellen Hunden (4a-5f und 6a-7d)

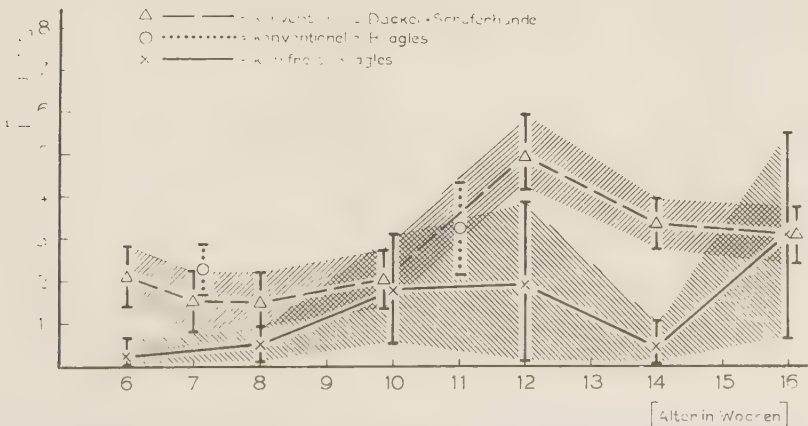


Abb.18 PNAK Titer gegen MO bei keimfreien (1a-3h) und konventionellen Hunden (4a-5f und 6a-7d)

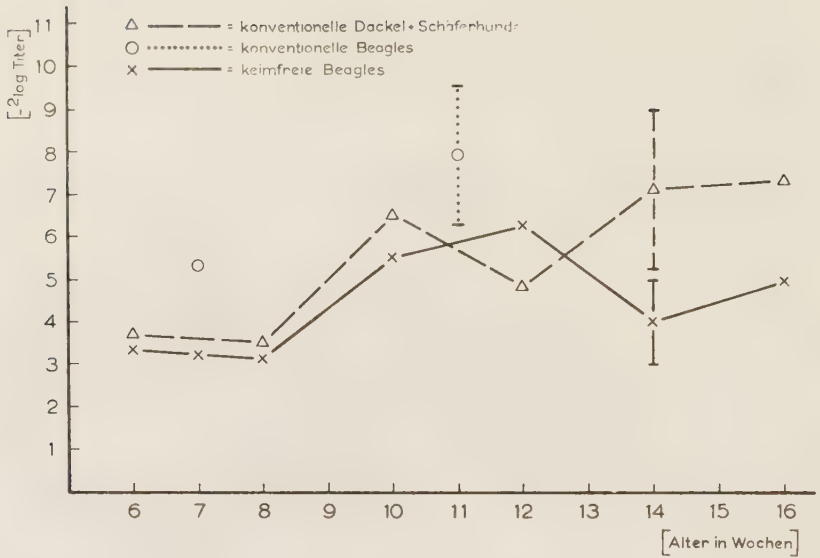


Abb.19 PNAK Titer gegen P bei keimfreien (1a-3h) und konventionellen Hunden (4a-5f und 6a-7d)

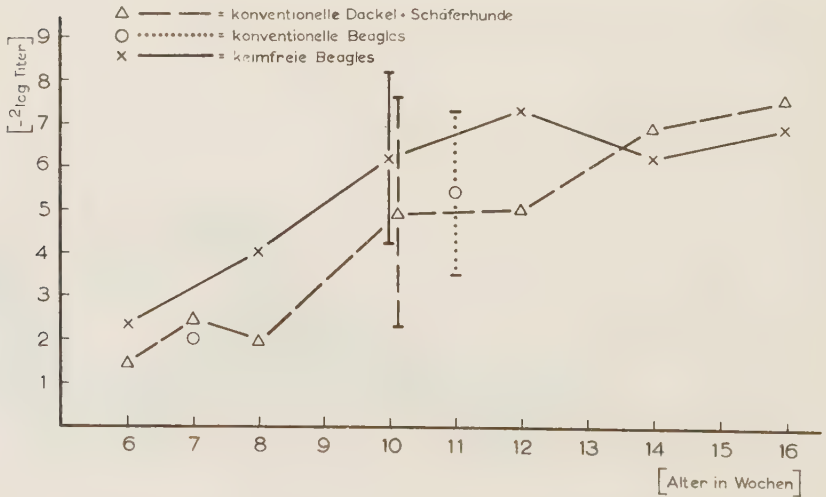


Abb.20 PNAK Titer gegen S bei keimfreien (1a-3h) und konventionellen Hunden (4a-5f und 6a-7d)

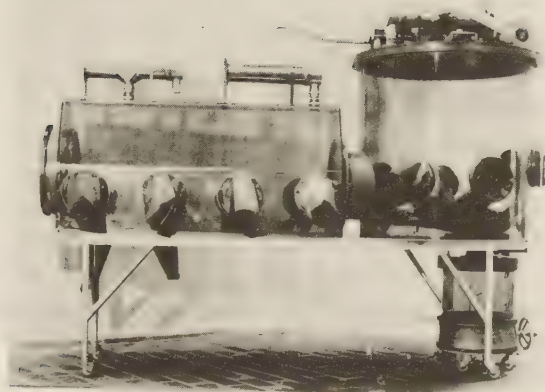


Abb.21 Isolator für die keimfreie Haltung von Hunden

4.1.2. Berechnung der Signifikanz

Die statistische Berechnung, ob die erhaltenen Titerdifferenzen zwischen keimfreien und konventionellen Tieren mit einer größeren ($P < 0,01$) oder kleineren Wahrscheinlichkeit ($P > 0,01$) als 99% signifikant sind, ergibt, daß keimfreie Beagles signifikant später PNAK gegen Erythrozyten der menschlichen Blutgruppe B cde, cdE und CDE und gegen Erythrozyten der menschlichen Blutgruppe O ausbilden als konventionelle Beagles, Dackel und Schäferhunde.

Während für die PNAK gegen MB sowohl in der 6., 10. und 14. Woche sich $P < 0,01$ errechnete, war dies für MO nur in der 6. und 14. Woche der Fall. Für die 10. Woche errechnete sich dagegen eine Wahrscheinlichkeit von $P > 0,3$, d.h. in der 10. Woche weichen die Titer der PNAK gegen MO zwischen konventionellen und keimfreien Tieren nicht signifikant von einander ab.

Kein einziger signifikanter Unterschied zwischen den einzelnen Gruppen wurde bei den PNAK gegen P und S gefunden.

4.2. Keimfreie Schweine

Untersucht wurden 14 SPF Ferkel und 1 keimfreies Ferkel im Alter von 0 bis 6 Wochen (Tab. 51-53).

Während das keimfreie Schwein im Alter von 5 Wochen gegen Mensch B und gegen Pferd wesentlich geringere PNAK Titer besitzt als vergleichbare SPF- und konventionelle Ferkel, besteht in den PNAK Titern zwischen SPF Tieren und konventionellen Tieren kein Unterschied. PNAK gegen Hundeerythrozyten sind bei dem keimfreien Tier wie auch bei den SPF Ferkeln in allen untersuchten Altersstufen nicht nachzuweisen. Eine Woche nach Konventionalisierung des keimfreien Tieres scheint die PNAK Bildung einzusetzen. Die Titer konnten jedoch wegen einer Pneumonie, an der das Tier am 10. Tage nach Entfernung aus dem Isolator verstarb, nicht weiter verfolgt werden.

Tabelle 51

Verhalten der Titer von MB-Erythrozyten hämagglutinierenden PNAK bei SPF- und keimfreien Ferkeln unterschiedlicher Altersstufen:

Alter (Tg):	21	28	35	39	40	46	Bemerkungen
Nr. 1a	0						Tier Nr. 1a-3b sind SPF Tiere, die bis zum Ende der 2. Lebenswoche mit Rindermilchkonzentrat, ab dann zusätzlich mit Altromin Pellets gefüttert wurden.
1b	0						
1c	0						
1d	0						
1e	0						
2a		0+					Tier Nr. 4a u. 4b sind ebenfalls SPF Tiere, die jedoch bis zum Anfang der 6. Woche keine Pellets bekamen.
2b		32					
2c		0+					
2d		2					
2e		0+					
3a			16+				Tier Nr. 5a ist das keimfreie Tier, das wie Nr. 4a u. 4b bis zur 6. Woche nur Rindermilchkonzentrat bekam und am 39. Tag aus dem Isolator genommen wurde.
3b			8+				
4a			32				
4b			4+				
5a				0	0	2+	

Tabelle 52

PNAK gegen Hund (siehe auch Tab.51): PNAK gegen Pferd (siehe auch Tab.51):

Alter: 21 28 35 39 40 46

Nr. 1a	0					
1b	0					
1c	0					
1d	0					
1e	0					
2a	0+					
2b	0					
2c	0					
2d	0					
2e	0+					
3a		0				
3b		0				
4a		0				
4b		0				
5a			0	0	0	

Tabelle 53

Alter: 21 28 35 39 40 46 (Tg.)

Nr. 1a	0					
1b	0					
1c	0					
1d	0					
1e	0					
2a		4				
2b		0				
2c		32				
2d		2				
2e		128				
3a			8			
3b			16			
4a			8			
4b			8			
5a				0	0	0

4.3. Weitere gnotobiotische Tiere

Neben Seren keimarmer Hunde und Schweine wurden noch Seren entsprechender Ratten, Mäuse, Kaninchen und auch das Serum einer keimfreien Katze untersucht. Nachstehend sind die Ergebnisse zusammengefaßt (Tab. 54):

Tabelle 54

Vergleich der PNAK Titer verschiedener konventioneller und gnotobiotischer Tiere (Titerangaben = $2^{\log}$ Titer):

Spezies	Alter (Woch.)	konventionell					SPF					keimfrei				
		n	MB	S	P	H	n	MB	S	P	H	n	MB	S	P	H
Mäuse	3	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0
"	20	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0	10	0	0	0	0
Ratten	3	15	0	0	0	0						15	0	0	0	0
"	20	15	0	0	0	0	15	0	0	0	0					
Kanin-	2	3	0	0	1,0	0						1	0	0	0	0
chen	12	5	3,5	2,0	4,3	1,7						2	0	0	0	0
"	24	5	4,8	3,8	4,2	4,2	4	4,5	4,0	3,8	1,8					
Katze	20	5	6,0	6,4	4,2	2,6						1	1,0	0,5	3,5	2,0

Es zeigte sich, daß die beiden 12 Wochen alten keimfreien Kaninchen und die Katze niedrigere Titer als gleichaltrige konventionelle bzw. SPF-Tiere besitzen. Eine weitere Aussage kann wegen der geringen Anzahl der Versuchstiere nicht gemacht werden.

4.4. Absorption der PNAK zweier keimfreier Beagles am perfundierten Organ (Hämoperfusion-Schweineniere)

2 Tage nach Konventionalisierung der keimfreien Beagles Nr. 3d und 3e (Kap. 4.1.) wurden Schweinenieren (im Rahmen einer anderen Arbeit) in deren Kreislauf (Arteria femoralis) über 30 min eingeschaltet. Das Verhalten der PNAK Titer nach Durchströmung der Niere und während der anschließenden 10 Tage nach dieser Hämoperfusion wurde beobachtet (Tab. 55).

Tabelle 55

Verhalten der PNAK Titer von Beagles nach Hämoperfusion an Schweinenieren:

	Nr.	vor OP		30' nach OP		10 Tg. nach OP	
		art.	u. ven.	art.	u. ven.	art.	u. ven.
Häm gegen:	Mensch B	3d	8	8	8	8	
		3e	16+	16+	16+	16+	
	Mensch O	3d	2	2	2	4	
		3e	4	4	4	4	
	Pferd	3d	64+	128	32+	128	
		3e	128	128	64+	1000	
	Schwein	3d	128	128	2	4000	
		3e	16	16	0	4000	

graphische Darstellung:

Mensch B	100%			
Mensch O	100%			
Pferd	100%		70%	400%
Schwein	100%		2%	2000%

art. = PNAK Titer im arteriellen Blut, ven. = dto. im venösen Blut

Sehr deutlich und signifikant ist die völlige Absorption der gegen Schweine-Erythrozyten gerichteten PNAK während der Hämoperfusion und im Gegensatz dazu der starke Anstieg in den folgenden 10 Tagen. Bei einem Tier erhöhten sich gleichzeitig auch die PNAK Titer gegen Pferd.

4.5. Absorption der PNAK mit den bei gnotobiotischen Beagles gefundenen

spezifischen Bakterien:

In diesem Versuch sollte untersucht werden, ob mit denjenigen Bakterien, die zur Kontamination der Hunde geführt hatten (siehe C 5.7.), eine spezifische Absorption von PNAK möglich ist.

----- Tabelle 56 -----

Verhalten der PNAK Titer im Serum -vor und nach der Inkubation- mit Bakterien:

PNAK gegen:	Nr.	MB		P		S	
		vor	nach	vor	nach	vor	nach
keimfreie Beagles (10 Wochen alt)	1a	16	4	128	128	250	32//
"	1a	4+	0	64	64	64	n.t.
"	1e	8	8	64	64	250	32//

Erläuterungen: vor = Titer vor der Behandlung, nach = Titer nach der Behandlung

Es zeigte sich, daß die PNAK gnotobiotischer Tiere mit den bei diesen Tieren gefundenen Bakterien nicht signifikant absorbiert werden können. Eine deutliche, allerdings nicht absolute Senkung gelang nur von den gegen Schweine-Erythrozyten gerichteten PNAK.

5. Einfluß der Immunisierung mit Bakterien

Aus den Ergebnissen der Untersuchung keimfreier Tiere muß die Überlegung abgeleitet werden, daß Bakterien maßgeblich an der Entwicklung der PNAK beteiligt sind. Es lag deshalb die Frage nahe, ob auch die direkte Immunisierung mit Bakterien einen Einfluß hat.

5.1. E. coli O 86

Da bekannt ist, daß die Isoagglutinine des Menschen unter anderem durch den Einfluß von E. coli O 86 entstehen, wurden zuerst Kaninchen mit abgetöteten Bakterien dieses Stammes immunisiert. Untersucht wurden Tiere, die noch keine PNAK gebildet hatten (4 Wochen alt), weiterhin solche, bei denen die PNAK gerade erst auftreten (12 Wochen alt) und außerdem erwachsene Tiere.

5.1.1. Immunisierung 4 Wochen alter Kaninchen mit E. coli O 86

Tabelle 57

PNAK Titer während der Immunisierung junger Kaninchen mit E. coli O 86:

Alter (Wochen):		4	5	6	7	8	Coli Titer	Bemerkungen
PNAK gegen MB	Nr. 1a	0	0	0	4	4	1:5000	immunisierte
	1b	0	0	0	4	8+	1: 320	Tiere
	2a	0	4	4+	32	32		"
	3a	0	4+	64	32	32		"
	3b	0	8	16	8	16		"
		$\bar{x}0,0$	$\bar{x}1,5$	$\bar{x}2,5$	$\bar{x}3,4$	$\bar{x}3,9$		
			$s1,2$	$s2,5$	$s1,5$	$s1,1$		
	1c	0	0	2	2	2	1: 160	nicht immuni-
	1d	0	0	0	0	4	1:1280	sierte Kontroll-
	2b	2	2	4	4	8		Tiere
	2c	2	0	8	8	16		"
	3c	0	0	2+	8	4		"
	3d	0	0	0	.4	2		"
		$\bar{x}0,3$	$\bar{x}0,2$	$\bar{x}1,3$	$\bar{x}1,8$	$\bar{x}2,2$		
			$s0,1$	$s1,1$	$s1,2$	$s1,3$		
PNAK gegen MO	Nr. 1a	0	8+	0	8+	4	1:5000	immunisierte
	1b	0	0	0+	16+	16+	1: 320	Tiere
	2a	2	8	4	16	16		"
	3a	2	8	16	16	16		"
	3b	2	2+	4	2	2		"
		$\bar{x}0,6$	$\bar{x}2,2$	$\bar{x}1,7$	$\bar{x}3,2$	$\bar{x}3,1$		
			$s1,1$	$s1,6$	$s1,3$	$s1,5$		
	1c	0	0	0	2	4	1: 160	nicht immuni-
	1d	0	0	0	0	2	1:1280	sierte Kontroll-
	2b	4+	4	2	2	2		Tiere
	2c	2	2	2	2	2		"
	3c	0	2	2	2	2		"
	3d	2	4	8	4	0		"
		$\bar{x}0,7$	$\bar{x}1,0$	$\bar{x}1,0$	$\bar{x}1,0$	$\bar{x}1,0$		
			$s0,9$	$s1,1$	$s0,6$	$s0,6$		

Tabelle 58

PLAK Titer während der Immunisierung 4 Wochen alter Kaninchen mit E.coli 086:

Alter (Wochen):		4	5	6	7	8	Bemerkungen
PNAK gegen P	Nr. 1a	2	4	4	4	8+	immunisierte Tiere
	1b	0+	4	16+	32	32	
	2a	0	64	16	32	16	
	3a	0	8	16	16	8	
	3b	8	16	16	16	4+	
		$\bar{x}0,9$	$\bar{x}3,4$	$\bar{x}3,7$	$\bar{x}4,0$	$\bar{x}3,6$	nicht immuni- sierte Kon- trolltiere
	1c	4	4+	0	0	0	
	1d	0	2	4	4	8	
	2b	4	16	32	1000	32	
	2c	4	32	64	64	8+	
	3c	0	0	0	16	0	
	3d	0	2	8	64	8	
		$\bar{x}1,0$	$\bar{x}2,3$	$\bar{x}2,7$	$\bar{x}4,7$	$\bar{x}2,4$	
PNAK gegen S	1a	2	4+	0	2	2	immunisierte Tiere
	1b	0	0	0	0	0	
	2a	0	2	4	4	4	
	3a	0	0	0	0	0	
	3b	0	0	0	0	0	
		$\bar{x}0,2$	$\bar{x}0,7$	$\bar{x}0,4$	$\bar{x}0,6$	$\bar{x}0,6$	nicht immuni- sierte Kon- trolltiere
	1c	0	0	0	0	0	
	1d	0	0	0	0	0	
	2b	0	2	4	4	4	
	2c	0	0	4	16	0	
	3c	0	0	0	0	0	
	3d	0	2	0	2	0	
		$\bar{x}0,0$	$\bar{x}0,3$	$\bar{x}0,7$	$\bar{x}1,1$	$\bar{x}0,3$	
PNAK gegen H	1a	0	0	2	4	2	immunisierte Tiere
	1b	0	0	0	0+	2	
	2a	0	0	0	0	0	
	3a	0	0	0	0	2	
	3b	2+	0	2	0	0	
		$\bar{x}0,3$	$\bar{x}0,0$	$\bar{x}0,4$	$\bar{x}0,5$	$\bar{x}0,6$	nicht immuni- sierte Kon- trolltiere
	1c	0	0	0	2	2	
	1d	0	0	0	2	0	
	2b	0	0	2	4+	4	
	2c	0	2+	2+	4	0	
	3c	0	0	0	16	0	
	3d	0	0	0	4	0	
		$\bar{x}0,0$	$\bar{x}0,3$	$\bar{x}0,4$	$\bar{x}2,1$	$\bar{x}0,5$	

5.1.2. Immunisierung 12 Wochen alter Kaninchen mit E. coli O 86

Tabelle 59

PNAK Titer während der Immunisierung 12 Wochen alter Kaninchen mit E. coli O 86:

Alter (Wochen) :		12	13	14	15	16	18	Bemerkungen
PNAK gegen MB	Nr. 1a	2	16	32	8	32	32+	immunisierte Tiere " "
	1b	0+	32	64	64	32+	8+	
	1c	0	8	16	32	32	16	
	2a	64	64+	1000	500	250+	128	
		$\bar{x}1,9$	$\bar{x}4,4$	$\bar{x}6,1$	$\bar{x}5,8$	$\bar{x}6,0$	$\bar{x}5,0$	Kontroll- tiere
	1d	0	4	8+		16		
	2e	8	4+	8+		32+		
		$\bar{x}1,5$	$\bar{x}2,3$	$\bar{x}3,5$		$\bar{x}4,8$		
PNAK gegen MO	Nr. 1a	4	32	64	16	64	32+	immunisierte Tiere " "
	1b	4	64	128	64	64	16	
	1c	4	8		32	16	16	
	2a	2	8	16	8	8	8	
		$\bar{x}1,8$	$\bar{x}4,2$	$\bar{x}5,4$	$\bar{x}4,5$	$\bar{x}4,8$	$\bar{x}4,1$	Kontroll- tiere
	1d	4	8	32		16		
	2b	2	8	16+		64		
		$\bar{x}1,5$	$\bar{x}3,0$	$\bar{x}4,8$		$\bar{x}5,0$		
PNAK gegen P	Nr. 1a	16+	16+	8+	4+	64+	64	immunisierte Tiere "
	1b	8	16	16	32	16	32	
	1c	8+	16		8	8	32	
	2a	32	32	16+	64	64	64	
		$\bar{x}4,0$	$\bar{x}4,4$	$\bar{x}4,0$	$\bar{x}4,1$	$\bar{x}4,3$	$\bar{x}5,5$	Kontroll- tiere
	1d	4	4	64		16		
	2b	4	4	32		64		
		$\bar{x}2,0$	$\bar{x}2,0$	$\bar{x}5,5$		$\bar{x}5,0$		
PNAK gegen S	Nr. 1a	2	2	4	2	16	8	immunisierte Tiere
	1b	0	2	4+	4+	4	2	
	1c	0	2	2+	4	4	8	
	2a	16	32	16	32+	16	64	
		$\bar{x}1,3$	$\bar{x}2,0$	$\bar{x}2,5$	$\bar{x}2,8$	$\bar{x}3,0$	$\bar{x}3,2$	Kontroll- tiere
	1d	0	0	8		8		
	2b	8	16	16		64		
		$\bar{x}1,5$	$\bar{x}2,0$	$\bar{x}3,5$		$\bar{x}4,5$		

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 59

Alter (Wochen) :		12	13	14	15	16	18	Bemerkungen
PNAK gegen H	Nr. 1a	2	2	2	2	16+	16	immunisierte Tiere
	1b	2	4	16+	8+	8	16	
	1c	2	2		2	0	8	
	2a	2	16	16+	16	32	16	
		$\bar{x}1,0$	$\bar{x}2,0$	$\bar{x}3,3$	$\bar{x}2,4$	$\bar{x}3,1$	$\bar{x}3,8$	Kontroll- tiere
	1d	2	2	8		4		
	2b	2	2	4		4		
		$\bar{x}1,0$	$\bar{x}1,0$	$\bar{x}2,5$		$\bar{x}2,0$		

Verhalten der PNAK Titer vor (12. Woche) während (13.-15. Woche) und nach (16.-18. Woche) Immunisierung 12 bis 18 Wochen alter Kaninchen

Als Kontrolltiere wurden Geschwister (1a, 1b, 1c = nicht immunisiert, 1d = immunisiert etc.) verwendet. Tier Nr. 1a bis 1c und 2a besaßen in der 18. Woche gegen E. coli O 86 einen Titer von 1:2500/5000.

5.1.3. Immunisierung erwachsener Kaninchen mit E. coli O 86

Tabelle 60

PNAK Titer während der Immunisierung erwachsener Kaninchen mit E. coli O 86:

		0.Wo.	1.Wo.	2.Wo.	3.Wo.	4.Wo.	Bemerkungen
PNAK gegen MB	Nr.1	128+	128	128	64	250	immunisier- te Tiere
	2	64+	128+	250	250	128	
	3	8	16	16	16	16	
	4	32+	32	32	250	250	
		$\bar{x}5,6$	$\bar{x}5,9$	$\bar{x}6,0$	$\bar{x}6,5$	$\bar{x}6,8$	nicht immu- nisierte Tiere
	5	64	128	128	64	64	
	6	16	16	16	32	32	
		$\bar{x}5,0$	$\bar{x}5,5$	$\bar{x}5,5$	$\bar{x}5,5$	$\bar{x}5,5$	
PNAK gegen MO	1	128+	16	128	64	32	immunisier- te Tiere
	2	128	128	32	128	64	
	3	8	2	4+	4	8	
	4	32	8	8	8	2	
		$\bar{x}5,6$	$\bar{x}3,8$	$\bar{x}4,4$	$\bar{x}4,5$	$\bar{x}3,8$	nicht immu- nisierte Tiere
	5	32	32	32	16+	32	
	6	16	16	16	16	16	
		$\bar{x}4,5$	$\bar{x}4,5$	$\bar{x}4,5$	$\bar{x}4,3$	$\bar{x}4,5$	

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 60

		0.Wo.	1.Wo.	2.Wo.	3.Wo.	4.Wo.	Bemerkungen
PNAK gegen P	Nr.1	16	4	16	8	8	immunisier- te Tiere " "
	2	16	8	4	16	16	
	3	4	4	8+	16	32	
	4	32+	32	32	32	8	
		$\bar{x}3,9$	$\bar{x}3,0$	$\bar{x}3,6$	$\bar{x}4,0$	$\bar{x}3,3$	nicht immu- nisierte Tiere
	5	64	64	32	32	32	
	6	32	32	32	32	32	
		$\bar{x}5,5$	$\bar{x}5,5$	$\bar{x}5,0$	$\bar{x}5,0$	$\bar{x}5,0$	
PNAK gegen S	1	8+	8+	16	8+	4+	immunisier- te Tiere " "
	2	32	4	16	32	4	
	3	16	16	16	32	8+	
	4	8+	32	32	32	2+	
		$\bar{x}4,0$	$\bar{x}3,6$	$\bar{x}4,3$	$\bar{x}4,6$	$\bar{x}2,4$	nicht immu- nisierte Tiere
	5	64	64	64	32	16	
	6	16+	16	16	16+	16	
		$\bar{x}5,3$	$\bar{x}5,0$	$\bar{x}5,0$	$\bar{x}4,8$	$\bar{x}4,0$	
PNAK gegen H	1	8	16	16	32	4	immunisier- te Tiere " "
	2	8	4	4+	8	8	
	3	4	8	8	8	8	
	4	0+	16	8	0	2	
		$\bar{x}2,1$	$\bar{x}3,3$	$\bar{x}3,1$	$\bar{x}2,8$	$\bar{x}2,3$	nicht immu- nisierte Tiere
	5	16	32	32	16	8	
	6	16	8+	16+	16	16	
		$\bar{x}4,0$	$\bar{x}4,3$	$\bar{x}4,8$	$\bar{x}4,0$	$\bar{x}3,5$	

Verhalten der PNAK Titer vor (0. Wo.) während (1.-3. Wo.) und nach (4. Wo.) der Immunisierung erwachsener Kaninchen und gleichaltriger Kontrolltiere mit E. coli O 86

Faßt man die Ergebnisse zusammen (Abb. 22-26), so sieht man, daß juvenile Tiere (allerdings nur mit den PNAK Titern gegen MB und MO) deutlich auf die Impfung reagierten. Bei den Titern erwachsener Kaninchen und auch bei den Titern gegen P, S und H juveniler Tiere zeigte sich dagegen keine Veränderung.

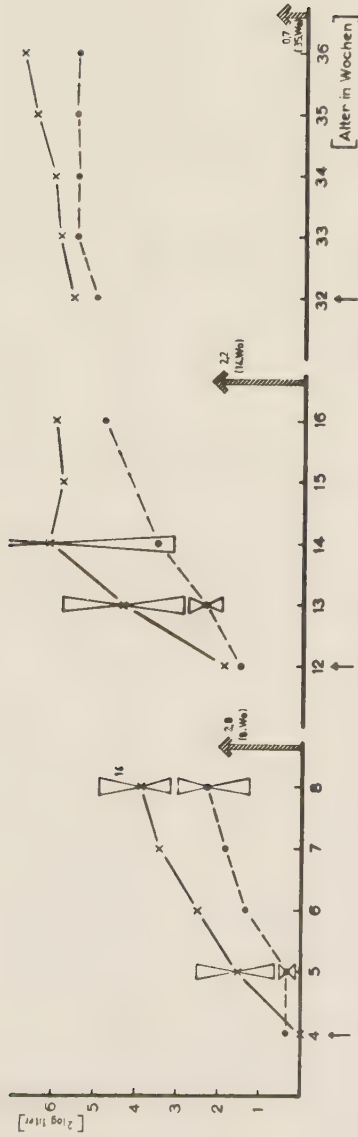


Abb.22 Verhalten der PNAK Titer gegen MB bei jungen (4-8 Wochen und 12-16 Wochen) und erwachsenen (32-36 Wochen) Kaninchen nach der Immunisierung mit E. coli O 86

— = immunisierte Tiere; - - = unbehandelte Kontrolltiere; ▨ = höchste Titerdifferenz zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren, die jedoch nur dann aufgetragen wurde, wenn die PNAK Titer der immunisierten Tiere höher lagen als die der Kontrolltiere; ↑ = letzter Titer vor Impfbeginn; die Standardabweichung 1s ist nur dann eingezeichnet, wenn signifikante Unterschiede gegeben sind.

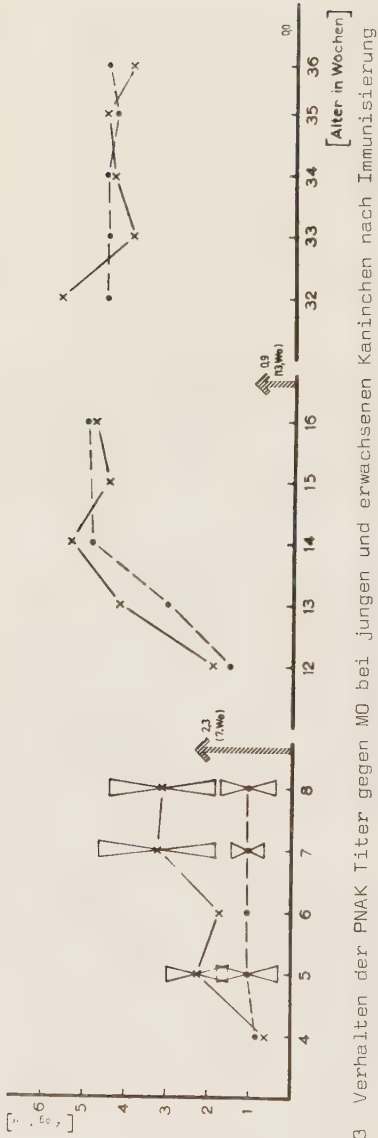


Abb. 23 Verhalten der PNAK Titer gegen MO bei jungen und erwachsenen Kaninchen nach Immunisierung mit E. coli O 86 (s. Abb. 22)

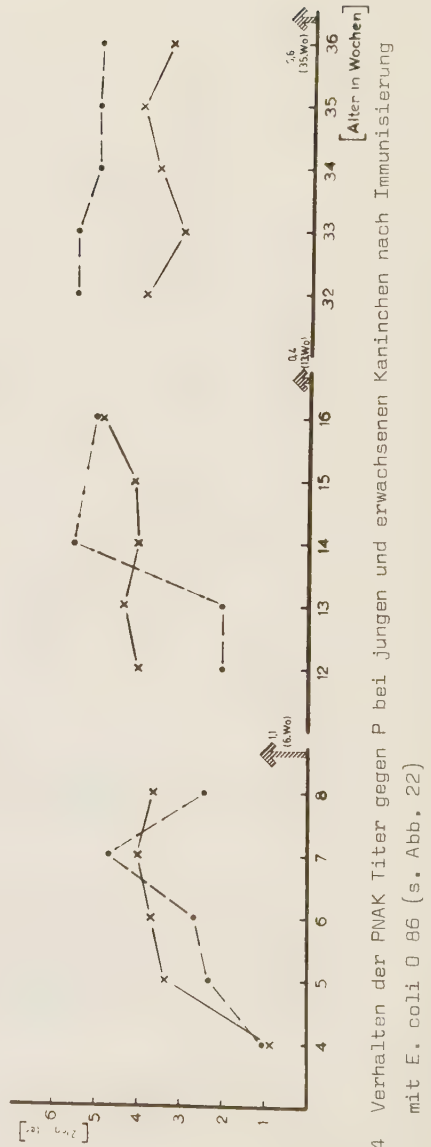


Abb. 24 Verhalten der PNAK Titer gegen P bei jungen und erwachsenen Kaninchen nach Immunisierung mit E. coli O 86 (s. Abb. 22)

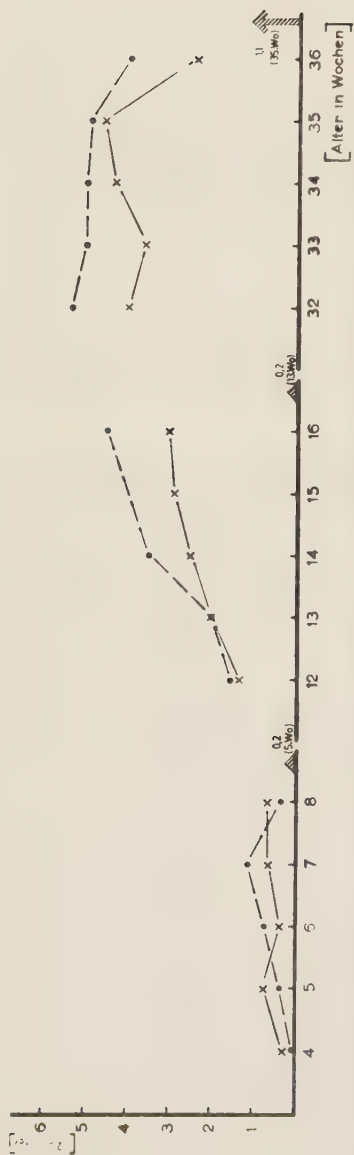


Abb. 25 Verhalten der PNAK Titer gegen S bei jungen und erwachsenen Kaninchen nach Immunisierung mit E. coli O 86 (s. Abb. 22)

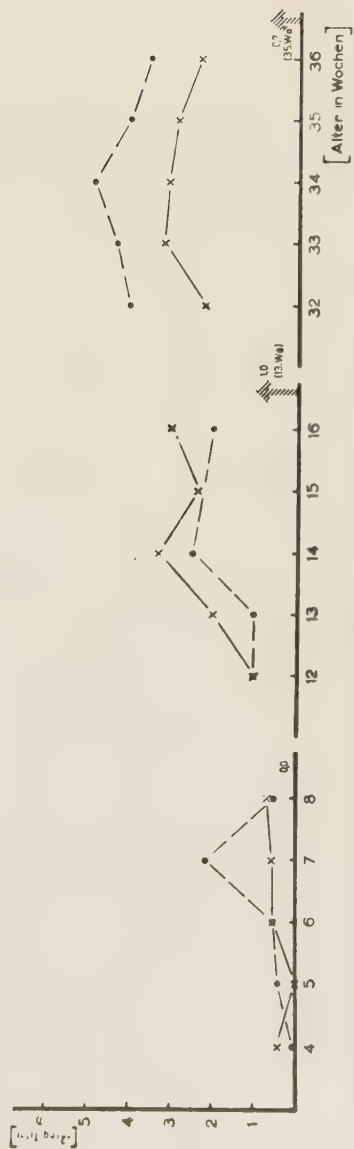


Abb. 26 Verhalten der PNAK Titer gegen H bei jungen und erwachsenen Kaninchen nach Immunisierung mit E. coli O 86 (s. Abb. 22)

5.2. Boosterung mit E. coli O 86

Die Tiere 1a und 1b des Versuches Nr. C 5.1.1. wurden nach einer Pause von 6 Wochen (Anfang der 8. Woche bis Ende der 13. Woche) nochmals mit E. coli O 86 immunisiert. Als nicht geboosterte Kontrolltiere wurden die Tiere 1c und 1d geführt. Ein signifikanter Unterschied zwischen geboosterten und nicht geboosterten Tieren war nicht festzustellen (Tab. 61).

Tabelle 61

Verhalten der PNAK Titer 12 bis 16 Wochen alter Tiere (Nr. 1a und 1b) vor (12. Woche), während (13. bis 15. Woche) und nach der Auffrisch-Immunisierung mit E. coli O 86:

Alter (Wochen) :		12	13	14	15	16	Anti-Coli-Titer
PNAK gegen MB	Nr.1a	8	8	8	32	16+	1:2500 (15.Wo.)
	1b	8	16	64	±	±	1:1280 (14.Wo.)
	1c	8	16	32	16+	±	1: 20 (15.Wo.)
	1d	16	8+	4	8	16	1: 160 (15.Wo.)
PNAK gegen MO	1a	16	8	8	16	2	"
	1b	2	8	4+	±	±	"
	1c	2	8	8	2	±	"
	1d	8	4+	8	8	16	"
PNAK gegen P	1a	0	8	2	16	2	"
	1b	2	16+	8+	±	±	"
	1c	0	32	8+	8+	±	"
	1d	4+	64	32	16	16	"
PNAK gegen S	1a	0	0	2+	8+	0	"
	1b	0	0	4+	±	±	"
	1c	0	8	8	4	±	"
	1d	0	2+	8	8	8	"
PNAK gegen H	1a	0	0	2	16	16	"
	1b	0	0	4	±	±	"
	1c	0	8	8	8	±	"
	1d	0	8+	16	32+	4	"

Erläuterungen: Tier Nr. 1c und 1d wurden nicht erneut immunisiert. Alle Tiere waren im Versuch Nr. C 5.1.1. verwendet und bereits zwischen der 4. und 7. Woche mit dem gleichen Serotyp immunisiert worden.

5.3. Impfung mit Freundschem Adjuvans

Die Impfung von 5 jungen Kaninchen im Alter von 4 bis 10 Wochen mit kompletten Freundschem Adjuvans sollte untersuchen, ob die normalerweise in jedem Tier vorhandenen Mikroorganismen bzw. Antigene durch das Adjuvans in ihrer antigenen Wirkung so beeinflußt werden, daß sie dadurch verstärkt die PNAK stimulieren.

Es zeigte sich jedoch, daß die Titer nach der Behandlung gegenüber ungeimpften Kontrolltieren nicht verstärkt angestiegen waren !

Die Behandlung mit Freundschem Adjuvans hat demnach keinen Einfluß auf die PNAK Titer.

5.4. Immunisierung mit 129 verschiedenen O-Antigenen von E. coli

Nachdem sich zeigte, daß E. coli die PNAK Produktion stimuliert, wurde nach weiteren Bakterienantigenen gesucht, die eine ähnliche Wirkung auf die Bildung der PNAK haben könnten. Wie ausführlich am Ende dieses Abschnittes besprochen wird, konnte bei der Mehrzahl aller untersuchten Antigene (Tab. 62) tatsächlich ebenfalls ein Einfluß festgestellt werden. Allerdings reagierten die Kaninchen auf die Immunisierung meist nicht mit einer Erhöhung, sondern mit einer Erniedrigung der PNAK Titer!

Um dieses Ergebnis nachzuprüfen und um gleichzeitig die Reproduzierbarkeit zu testen, wurden nochmals sechszwanzig der bereits untersuchten Antigene an eine zweite Gruppe von Kaninchen verimpft (in Tabelle 62 mit "w" kenntlich gemacht). Dabei zeigte sich, daß die meisten der nachträglich geimpften Kaninchen dasselbe Verhalten der PNAK Titer während bzw. nach der Impfung zeigten wie die erstgeimpften Tiere.

Die Antigene 31, 47, 67, 72, 94 und 122 existieren im E. coli O Antigen-schema nicht. Die anderen noch fehlenden O-Antigene konnten aus technischen Gründen nicht untersucht werden.

Tabelle 62

PNAK Titer im Serum erwachsener Kaninchen vor und nach der Immunisierung mit verschiedenen E. coli O Serotypen:

PNAK gegen:					PNAK gegen:					PNAK gegen:				
K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S
1 Ø	16+ 4+	16+ 4	32 8	16 4+	14 Ø	16+ 8	16+ 4+	32 32	16 8	28 Ø	16 4	0 0	32 8	8 4
2 Ø	64 64	32 64	64 32	64 8	15 Ø	32 32	32+ 16+	16 8	8 16+	29 Ø	250 64	0 0	16 16	8 2
3 Ø	32 8	16 8+	32 4	16 8	16 Ø	64 128	16+ 32	64 8+	8 8	30 Ø	0 0	0 0	16 8	2 2
3 Ø _w	64 32	4 4	128 8	16 8	17 +	8+ 16	16 16	16 16	4 8+	32 Ø	32 16	0 0	32 8	8 4
4 Ø	16 16	8+ 16	8 4	32 8	19 Ø	1000 500	8 2	128 32	16 4	32 Ø _w	32 16	8 2	8 0	4 2
5 Ø	250+ 128	32+ 32	32 8+	64 32	20 Ø	32 4	4 0	64 8	2 0	33 Ø	128 64	4 2	128 32	4 4
6 Ø	128 32+	32 16	64+ 8+	32 16	21 Ø	250 16	8 0	128 32	8 2	34 Ø	4 8	2 0	32 32	2 4
7 Ø	32 8	16 4	64 4	32 4	21 Ø _w	128 16	16 0	8 4		35 Ø	64+ 16+	8 0	128 8	8 2
8 Ø	64 64	16 16+	16 16	16 16	22 Ø	250 128	2 2	64+ 32+	16 8	38 Ø	128 64+	32 16	16+ 16	8 8+
9 Ø	128 128+	128+ 32	64 16	64 16	23 Ø	32 16	32 16+	64+ 8	32 16	41 +	16 64	0 0	32 32	8 8
10 Ø	128 128	32+ 64	32 128	32 8	24 Ø	32 16	2 0	16 8	2 0	43 Ø	250 32	4 8	128 32	4 8
11 Ø	500 500	16 128	16 32	32 16+	25 Ø	32+ 32+	64+ 16+	8 8	32 4	44 Ø	32 64+	8 4	64+ 64+	8 4
12 Ø	32 32	32 16+	32 8+	32 16	26 Ø	32+ 32+	16 16	64 32	8 8	45 Ø	128 128	16 4	128 128	4 4
13 Ø	16 16+	16 32	32 8	32 4	27 Ø	2000 64	2 0	64 8	8 2	46 Ø	32 128	32 16	500 500	8 16

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 62

K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S
48	8+	4	8	128	62	16	8	8	64	78	250	4	128	8
∅	4+	2	2	64	∅w	4	4	8	8	∅	64	4	16	4
49	32	4	64	16	63	64	4	32	4	79	64+	8	32	4
128	2	64	8		∅	64	0	16+	2	∅	64+	4	16	2
49	8	8	32	2	63	4	2	4	2	80	4000	4	250	8
w	32	2	8	64	∅w	2	0	8	4	∅	250	0	16	2
50	8	8+	16	4+	64	32	4	8	4	80	2	2	0	32
+	16+	16	16	500	+	32	8+	32	16	+w	8+	8	16	32
51	8	2	32	2	65	64+	32	4+	4	81	32	2	8	16
16	2	16	8		128	16	32	16		64	2	4	8	
54	500	8	128	16	66	250	2	128	16	82	500	4	128	8
∅	250	4	128	4	128	0	128	32		∅	128	0	8	4
54	16	2	32	16	68	16	16	16	8+	83	8	4	16+	32
∅w	16	2	16	4	+	32	16	32	64	+	64	8	64	1000
55	128	2	16+	4	69	16	4	500	4	84	64	16	8	16
64	2	32	2		∅	16	0	32	0	128	8	8+	16	
56	32	2	32+	16	70	16	32	16+	32	88	16	0	16+	2
32	2	250+	8+		16	16	8+	64		+	64	8	128	4
57	64	8	64+	8	71	8+	16+	4	16	88	128	2	4	8
16+	4	128	8		4+	16	16+	16		w	64	8	32	16
57	64	16	32	16	73	250	4	64	8	89	128	0	32+	4
∅w	16	8	8	8	∅	4	0	4	2	+	1000	4	250+	16
58	8+	4	128	8	74	32+	16+	8	8	90	32	2	32	2
16	2	64	8		∅	32	16	8	4	128	4	32	4	
59	128	2	128+	8	75	128+	2	128	16	92	128	0	128	16
64	4	128	8		∅	32	2	16	4	∅	32	0	16	8
60	1000	8	128	8	75	4	2	4	8	93	250	8	32+	64
500+	2	16	2		w	4+	4	8+	16	+	250	16	64	64
61	500	2	128	4	76	8	8	4	8	95	32	4	32	4
128	4	64	8		∅	4	2	2	2	16	2	16+	32	
62	8	2	16	32	77	1000	2	128	16	95	2	4	8	4
4	0	16+	2		∅	1000	2	32	2	+w	16	16	64	64

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 62

K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S
96	128 250	64 16	64 8	128 32	109	64 500	64 16	16 16	16	126	250 125	2 4	64 32	4 8
97	16 Ø	8 4	16 16	64 16	110	16 +	2 8	16 64	32 32+	126	16 w	8 16	32 64	8 16
97	64 w	2 250	0 64	16 4	111	128+ 250	8 16	8 4	8 32	127	500 1000	16 32	8 4	32 64
98	32+ 64	4 4	16 8	32 8	112	128 AB	8 4	16 8	8+ 32	128	128 500	32 16	64 16	16 4
99	1000 2000	64 32	32 32	128 64	112	500 AC	32 32	32 32	128 128	129	16 Ø	2 8	16 16	16 4
100	32 Ø	4 4	8 0	8 4	114	32 16+	16+ 16	4 4	16 32	130	16 +	4 128	8 16	16 32
101	32 64	16 8	16 16	16 16	115	32 16+	4 4	8 8	32 16	131	128 64	8 16	64 32	32 32+
101	16 w	2 32	4 128	16 128	115	16 Øw	8 4	16 4	16 16	132	1000+ Ø	8 8	16 16	128 64
102	16 8	2 8	8 4	4+ 4	116	16+ 16	32 16	16 32	8+ 8	134	500 64	16 8	4 16	250 128+
103	250 Ø	16 8	4 2	32 16	117	64 +	8 8	8 8	16 32+	135	2000 Ø	4 4	250 32	128 16
104	64 128	8 4	16 4	128 128	119	32+ 64+	4 4	8 16	32 64	136	16 +	4 128+	32 32	16 32+
105	64 Ø	4 16	8 2	32+ 4	120	32 64	8 16	128 64	32 32+	138	250 Ø	4+ 8	16 16	32+ 32
106	16 32	8 4	16 32	4 8	121	128+ 500	8 8	32 0	128 128	138	128 w	0 2	8 8	32 32
107	64 +	2 128	8 2	32 16+	123	250 128	16 16	16 64	32 128	139	250 64+	16 8	8 16	64+ 64
108	128 64	4 8	64 32	8 8	123	64 w	16 4	8 16	4 8	139	64 Øw	8 8	32 8	8 4
108	128 Øw	8 32	8 4	4 4	124	64 128	16 8	64 64	128 64	140	250 +	4 8	32 32	32 2000+

Fortsetzung nächste Seite

Fortsetzung von Tabelle 62

K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S	K	MB	MO	P	S
141	64	16	16	500	146	250	8	8	500	152	16	4	16	32+
	128	8	32	1000		250	4	32	64		64	8	16	16
142	64	8	16	8+	147	250	4	32	32	154	500+	8	8	64+
+	64	8	32	16+		250	8	16	16		250+	16	128	250
143	500	16	16	128	148	32	16+	8	8+	154	8	2	2	8
	250	8	32	64	Ø	16	8+	8	8	w	8	8	2	4
144	64	4	32	32	149	64	16	32	64+	155	128	4	16	32
	16	4	16	64	+	2000	64	32	1000		128	4	16	32
144	64	4	16	32	150	32	8	16	128	156	250+	8	8	128+
w	32	8	8	64		64	4	8	128		250+	16	16	128
145	1000	4	32	32+	151	128	4	32	32					
	1000	32	4	128		64	8	16	128					

Erläuterungen zu Tabelle 62 :

oberer Wert = PNAK Titer vor, unterer Wert = PNAK Titer nach der Immunisierung.
 K = Kennzeichnung: z. B. 96 = geimpfter E. coli-Typ; Ø = alle PNAK Titer waren nach der Immunisierung gefallen oder blieben unverändert; + = alle PNAK Titer waren nach der Immunisierung gestiegen oder blieben unverändert; w = Wiederholung derselben Immunisierung mit einem zweiten Kaninchen. (Diese Werte werden in der Tabelle bzw. Abbildung Nr. 29 mit den Ergebnissen der Immunisierung des ersten Kaninchens verglichen.)

In den nachstehenden Tabellen und Abbildungen sind die Ergebnisse dieses Versuches nochmals schematisch zusammengefaßt. In Abb. 27 und 28 wird gezeigt ob und wenn ja, wie die PNAK Titer der Tiere sich unter der Immunisierung veränderten.

In Abb. 29 sind die Ergebnisse der Wiederholungsimpfung zusammengefaßt und mit den Ergebnissen der ersten Immunisierung verglichen.

In Abb. 30 wird gezeigt, inwieweit die Ergebnisse der ersten Impfung in der Wiederholungsimpfung zu reproduzieren waren.

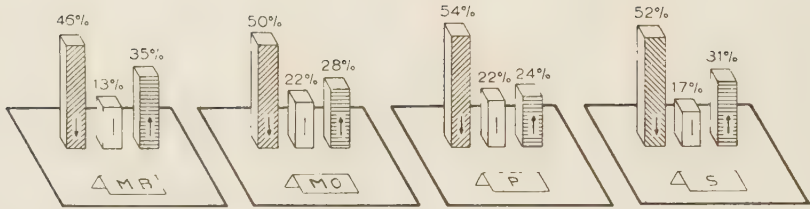
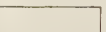
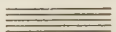


Abb. 27

Prozentualer Anteil der Tiere, die nach der Immunisierung mit den verschiedensten E. coli O Serotypen (1 - 156) einen niedrigeren Titer als vor der Immunisierung besaßen = , den Titer nicht veränderten = , nach der Immunisierung einen höheren Titer hatten = 

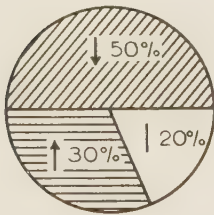


Abb. 28 (nebenstehend)

Prozentualer Anteil der immunisierten Tiere, aufgeschlüsselt nach ihrem Verhalten während der Impfung
- PNAK Titer summarisch erfaßt (Mittelwert der Summe einzelner PNAK Titer)

Tabelle 63

Zusammenstellung einiger typischer Ergebnisse des Großimpfversuches:

	MB	MO	P	S	Bemerkungen
E. coli O 73	250 4	4 0	64 4	8 2	häufigster Fall: abfallende PNAK Titer gegen alle Erys
E. coli O 112	500 500	32 32	32 32	128 128	selten; Überall gleichbleibende PNAK Titer
E. coli O 69	16 16	4 0	500 32	4 0	stark abfallende PNAK Titer gegen nur eine Art von Erys
E. coli O 50	8 16+	8+ 16	16 16	4+ 500	stark ansteigende PNAK Titer gegen nur eine Art von Erys
E. coli O 109	64 500	64 16	16 16	16 16	gekreuzt steigende und fallende PNAK Titer

Obere Werte = vor der Immunisierung, untere Werte = nach der Immunisierung

	TIERE	MB	MO	P	S	Gesamt%
kongruentes Verhalten	fielen nach der Impfung im Titer (die Tiere der 1. Impfung waren ebenfalls im Titer gefallen)	10	4	5	7	30%
	stiegen nach der Impfung im Titer (die Tiere der 1. Impfung waren ebenfalls im Titer gestiegen)	2	6	2	4	16%
	veränderten den Titer nach der Impfung nicht (die Tiere der 1. Impfung hatten ihn auch nicht verändert)	5	5	3	5	20%
divergierendes Verhalten	fielen nach der Impfung im Titer (die Tiere der 1. Impfung besaßen nach der Impfung einen höheren Titer)	1	3	3	2	10%
	stiegen nach der Impfung im Titer (die Tiere der 1. Impfung besaßen nach der Impfung einen niedrigeren Titer)	3	4	8	2	20%
	veränderten den Titer nach der Impfung nicht (die Tiere der 1. Impfung hatten ihn verändert)	1	0	1	2	3%

Abb. 29 Übersicht über das Ergebnis der Wiederholungsimpfung mit mehreren E. coli-Serotypen (siehe Kennzeichnung "w" in Tabelle 62)

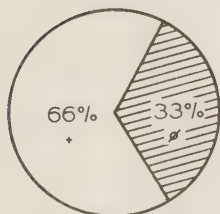


Abb. 30 (nebenstehend)

Reproduzierbarkeit der Immunisierungsergebnisse mit verschiedenen E. coli O-Serotypen (PNAK summarisch gegen alle getesteten Erythrozyten - siehe Abb. 29)

Zwei Drittel aller Ergebnisse der in der zweiten Charge immunisierten Kaninchen verhielten sich kongruent zu den Ergebnissen der ersten Charge ! Als besonders gut reproduzierbar erwiesen sich die Ergebnisse von Tieren, die nach der Immunisierung eine Titerdepression gezeigt hatten (Abb. 29, 1. Querspalte).

5.5. Höhe der PNAK Titer als Indikator für die Immunlage

An sechs erwachsenen Kaninchen, die unterschiedliche (geringe, mittlere und hohe) PNAK Titer gegen dasselbe Antigen besaßen, wurde untersucht, ob bei einer Immunisierung mit E. coli, die gegen diese Bakterien entstehenden Antikörpertiter eine Beziehung zu der PNAK Titerhöhe aufweisen. Der PNAK Titer sollte als Indikator für die Immunlage, das heißt der Fähigkeit eines Tieres zur Bildung spezifischer Antikörpertiter getestet werden.

Tabelle 64

Immunisierung von Tieren mit unterschiedlich hohen PNAK Titern, mit E. coli O 58 :

Alter (Wochen) :		0	1	2	3	4	T	K
PNAK gegen S	Nr. 1	4	2	16	4+	8+	10000	b
	2	16	16+	16	16		15000	c
	3	64	64	64	64	64	5000	b
PNAK gegen MB	1	4+	8	16	16	16	10000	b
	2	64	32	32	16+		15000	c
	3	250	250	128	128	250	5000	b
PNAK gegen MO	1	4	8	8	16	16	10000	b
	2	4+	16	16	8		15000	c
	3	64+	32	16+	128	250	5000	b
PNAK gegen P	1	8	8+	32	8	8	10000	b
	2	64	32+	64			15000	c
	3	64	64	64	64+	32+	5000	b
PNAK gegen H	3	32	16	32		8	5000	a
	1	64	8+	16	8	8	10000	c
	2	64	64	128	32		15000	a

Erläuterungen: Innerhalb einer Querspalte sind die Tiere entsprechend ihren PNAK Titern geordnet (Obere Tiere = niedrigste Titer, untere Tiere = höchste Titer); 0 = PNAK Titer vor Impfbeginn; 1,2 etc. = PNAK Titer in der ersten und zweiten Impfwoche; T = Titer gegen E. coli in der 4. bzw. 3. Woche

Fortsetzung der Erläuterungen nächste Seite

Fortsetzung der Erläuterungen zu Tabelle 64

K (Kennzeichnung) :

a = gleichlaufend (hohe PNAK Titer $\Rightarrow$ hohe Anti-Coli-Titer, niedrige PNAK Titer $\Rightarrow$ niedrige Anti-Coli-Titer)

b = entgegenlaufend (hohe PNAK Titer $\Rightarrow$ niedrige Anti-Coli-Titer, niedrige PNAK Titer $\Rightarrow$ hohe Anti-Coli-Titer)

c = uneinheitlich (mittlere PNAK Titer $\Rightarrow$ hohe Anti-Coli-Titer, mittlere PNAK Titer $\Rightarrow$ niedrige Anti-Coli-Titer)

Tabelle 65

Immunisierung von Tieren mit unterschiedlich hohen PNAK Titern, mit E. coli O 68 (Erläuterungen s. Tab. 64):

Alter (Wochen) :		0	1	2	3	4	T	K
PNAK gegen S	Nr. 4	8+	16	32	32	64	2500	a
	5	16	16	32	16		5000	c
	6	128	128	128	128	128	2500	b
PNAK gegen MB	4	16	8	16	32+	32	2500	a
	5	128+	250	250	250		5000	c
	6	250	250	128	250	1000		b
PNAK gegen MO	4	16	4	16	16	16	2500	a
	6	16	250+	250	500	500	2500	d
	5	32	64	128	128		5000	a
PNAK gegen P	4	16	32+	32	64	32	2500	a
	6	64	64	64+	64	64	2500	d
	5	128	32+	250	64		5000	a
PNAK gegen H	4	32	16	32	32	8	2500	a
	5	32	16+	32	8+		5000	c
	6	64	16	16	32+	8+	2500	b

Die Immunisierung mit E. coli O 58 ergab ein Verhältnis von a : b : c : d = 2 : 8 : 5 : 0 (siehe Tabelle 64), die Immunisierung mit E. coli O 68 das Verhältnis 7 : 3 : 3 : 2 . Eine signifikante Beziehung konnte also nicht nachgewiesen werden. Es scheint jedoch als ob Tiere mit hohem PNAK Titer eher niedrigere als höhere Titer gegen den verimpften Coli O Serotyp bilden.

5.6. Typische Titterschwankungen der PNAK

Nachstehend (Abb.31 und Tab. 66) sind einige sehr auffallende Titterschwankungen zusammengestellt, die im Rahmen der vorhergehenden Versuche (C 1.2.) bemerkt werden konnten. Vielleicht sind auch diese Schwankungen ein Ausdruck für die stattfindende bakterielle Besiedelung des Tieres. In der nachfolgenden Diskussion wird darauf näher eingegangen.

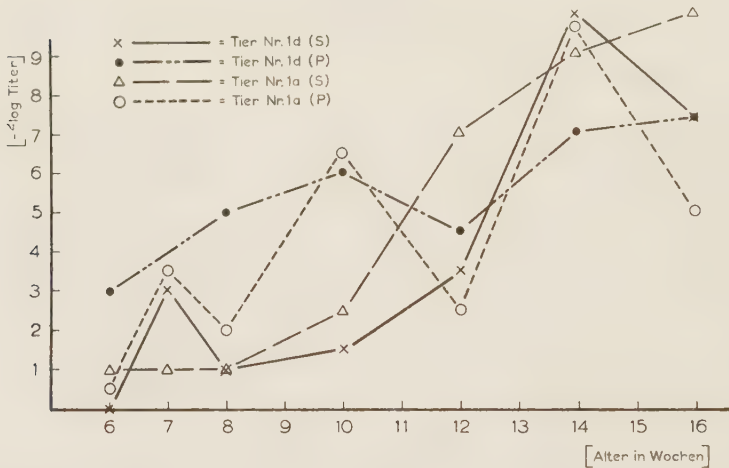


Abb. 31 Typische Schwankungen der PNAK Titer zweier Dackel

Tabelle 66

Typische Schwankungen der PNAK Titer von 4 Schäferhunden und 3 keimfreien Beagles:

Alter in Wochen :		6	10	14
Schäferhunde:	Cetan	4+	128	250
	(Häm gegen S) Claus	2+	250	64
	(siehe Kap. C 1.2.) Cauda	16	250	32
	Cinde	16	500	32
Beagles (keimfrei)	1a	8	128	16
	(Häm gegen P) 1b	8+	250	64
	(siehe Kap. C 4.1.) 1c	8+	250	16

5.7. Entwicklung der PNAK bei "keimfreien Hunden", aufgegliedert nach Familien bzw. Kontamination

Die drei "keimfreien" Hundefamilien (s.Kap. C 4.1.) waren zu verschiedenen Altersstufen mit unterschiedlichen Keimen kontaminiert worden :

1. Familie (Tier 1a-1f): Etwa ab der 3. Woche mit E.coli spec. und Enterokokken; ab 8. Woche Festfutter
K₁
2. Familie (Tier 2a-2e): Etwa ab der 9. Woche mit Sarcina spec. und Bac. subtilis; ab 10. Woche Festfutter
K₂
3. Familie (Tier 3a-3h): Etwa ab der 6. Woche mit Staph. aureus, Klebsiella spec., Aerobacter aerogenes, Bac. subtilis; ab 10. Woche Festfutter
K₃

Nachstehend werden die Ergebnisse der einzelnen Familien verglichen:

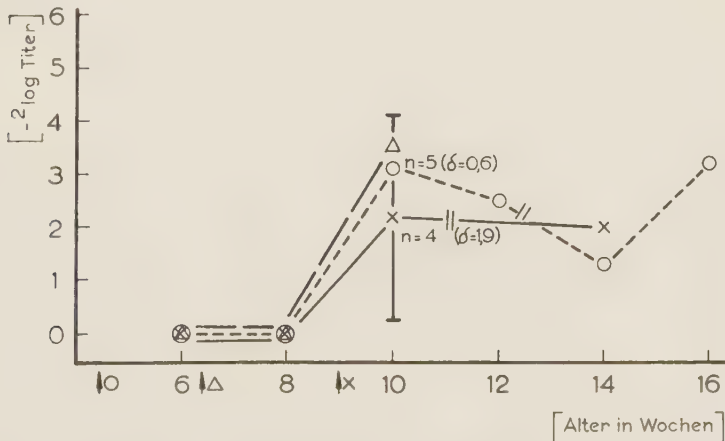


Abb.32 PNAK Titer gegen MB bei drei unterschiedlich kontaminierten "keimfreien" Beaglegruppen

↑ = Zeitpunkt der Kontamination, 0 = 1. Familie,
x = 2. Familie, Δ = 3. Familie, // = Zeitpunkt der Konventionalisierung

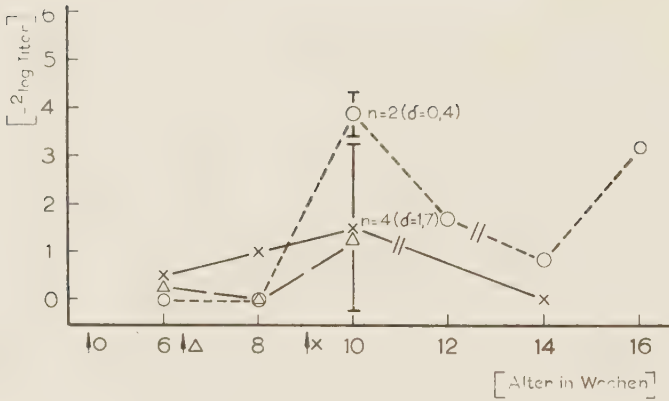


Abb.33 PNAK Titer gegen MO bei drei unterschiedlich kontaminierten "keimfreien" Beaglegruppen
(Leg. s. Abb. 32)

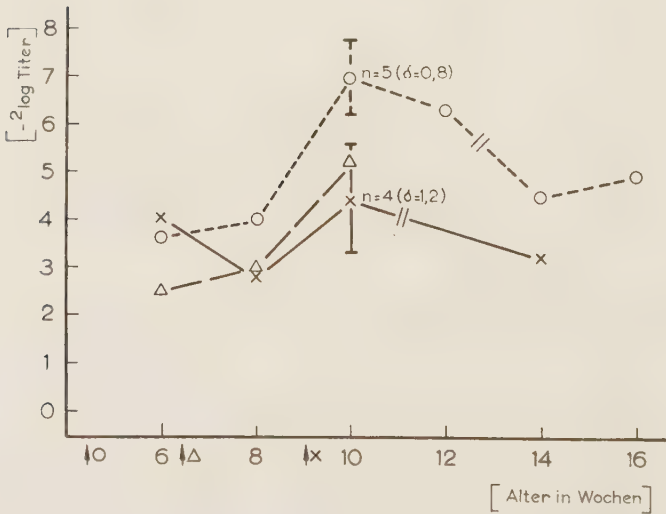


Abb.34 PNAK Titer gegen P bei drei unterschiedlich kontaminierten "keimfreien" Beaglegruppen
(Leg. s. Abb. 32)

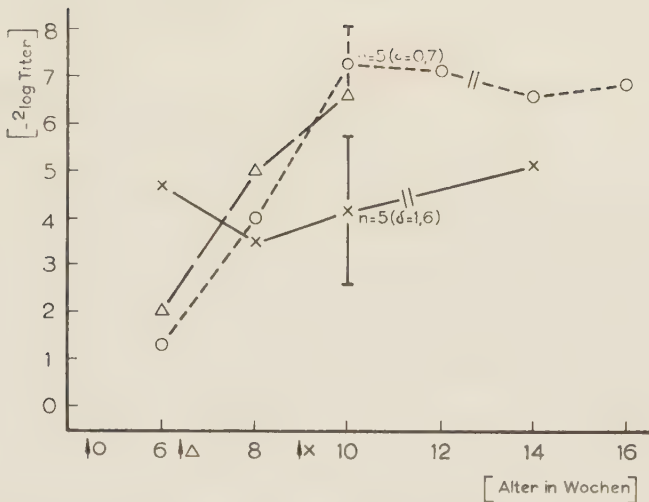


Abb.35 PNAK Titer gegen S bei drei unterschiedlich kontaminierten "keimfreien" Beaglegruppen
(Leg. s. Abb. 32)

Die einzelnen PNAK Titer gegen MB verhalten sich nicht unterschiedlich. Besonders hohe Titer, sowohl gegen MO, P und S, bilden die Tiere der 1. Familie (bereits ab der 3. Woche kontaminiert und ab der 8. Woche Festfutter). Demgegenüber niedrige Titer bilden die Tiere der 2. Familie (erst ab der 9. Woche kontaminiert und ab der 10. Woche Festfutter). Die PNAK Titer der 3. Familie (ab der 6. Woche kontaminiert und ab der 10. Woche Festfutter) liegen zwischen den Werten der 1. und 2. Gruppe.

Daß nach Kontamination mit einer bestimmten Bakterienart einzelne PNAK Titer (z.B. PNAK gegen MB) besonders stark ansteigen, kann also nicht gezeigt werden. Deutlich wird jedoch wiederum, daß die Besiedelung mit Bakterien ganz allgemein einen Einfluß auf die PNAK Titer ausübt, d.h. einmal eine Titerdepression, zum anderen auch wieder eine Erhöhung der Titer bewirkt.

D. D I S K U S S I O N und Literaturübersicht

Ziel dieser Arbeit war es, mehr über Entwicklung, Immunglobulinklasse, Auslösemechanismen und eventuelle Beeinflußbarkeit präformierter natürlicher Antikörper (PNAK) zu erfahren, um die dabei gewonnenen Kenntnisse für spätere Xenotransplantations- oder Immunisierungsprobleme nutzbringend verwenden zu können.

Obwohl präformierte natürliche Antikörper bereits seit langem bekannt sind - schon UHLENHUTH (103) wies in seiner berühmten Rede vor der Deutschen Anthropologischen Gesellschaft in Berlin 1904, die die serologische Blutsverwandtschaft zwischen Mensch und Affen zum Thema hatte, auf "natürliche Antikörper" hin - stellen sie trotzdem immer noch, vor allem auf oben genannten Gebieten, ein wenig bearbeitetes Thema der Immunologie dar.

Besonders umstritten sind sie deswegen, weil in der Regel Antikörper als Produkte einer Antigenstimulation aufgefaßt werden; die PNAK jedoch, so glauben einige Autoren (82), seien eine Folge der physiologischen Entwicklung von Serumglobulinen und ohne Antigen-Reiz entstanden.

HAMMER et. al. (49) untersuchten mehr als 50 verschiedene Tiere aus zoologischen Gärten. Bei allen Tieren waren PNAK zu finden und es konnte sogar gezeigt werden, daß die PNAK Titer eine Abhängigkeit von der zoologischen Verwandtschaft zeigen. Es fiel auch auf, daß einige Tiere sich nicht in das allgemeine Schema einfügen lassen. So bilden die Nager, insbesondere "Labor Maus" und "Labor Ratte" fast keine xenogenen hämagglutinierenden PNAK (ein Phänomen, das in der vorliegenden Arbeit auch bei wild lebenden Ratten gezeigt werden konnte: Tab. 45), besitzen jedoch hohe Titer an hämolysierenden PNAK und außerdem treten gegen ihre eigenen Erythrozyten die höchsten xenogenen PNAK bei anderen Tieren auf (49).

Diese und auch die in der Einleitung genannten Ergebnisse, die eindeutig die Besonderheit und die biologische Relevanz der PNAK beweisen, die Anwendbarkeit diffizilerer Versuchsmethoden und die erst seit kurzem mögliche keimfreie Haltung von größeren Säugetieren, waren Grund und Berechtigung für die vorliegende Arbeit.

1. Diskussion der Methode

1.1. Auswahlkriterien

Um für spätere gezielte Arbeiten eine brauchbare Ausgangsbasis zu erhalten, war es notwendig, zuerst breitgestreute, orientierende Untersuchungen vorzunehmen. Viele Faktoren wirkten jedoch beschränkend auf die Zahl der möglichen Untersuchungen. Insbesondere galt es, sich auf nur wenige der vielen möglichen Tiere, Antigene und Testmethoden festzulegen. Die Auswahl sollte dann möglichst repräsentativ sein.

Die in dieser Arbeit untersuchten Tiere wurden aus folgenden Gründen gewählt:

- An diesen Tieren sind die meisten bisherigen Untersuchungen über PNAK bekannt.
- Sie sind leicht zu halten und zu züchten.
- Es besteht für diese Tiere die Möglichkeit der keimfreien Aufzucht.
- Sie sind Vertreter von Körner-, Fleisch- und Allesfressern.
- Sie gehören verschiedenen zoologischen Ordnungen an.
- Sie stehen repräsentativ für die verschiedenen Plazenta-Typen.
- Sie werden oft in Xenotransplantations-Versuchen verwendet.
- In der Regel besitzen sie als erwachsene Tiere hohe Titer hämagglutinierender xenogener PNAK.

Eine weitere wichtige Frage war: Welches Antigen sollte untersucht werden? Da von jungen und keimfreien Tieren nur wenig Serum zu erwarten war, mußten die Untersuchungen auf einige wenige und starke Antigene beschränkt werden. Auch hierbei orientierten wir uns darüber, mit welchem Antigen bisher die meisten Erfahrungen vorlagen und gegen welches Antigen optimale PNAK Titer

gebildet werden. Deshalb untersuchten wir vor allem die hämagglutinierenden PNAK und zwar gegen Erythrozyten vom Mensch verschiedener Blutgruppen und gegen Hund, Schwein, Kaninchen und Pferd. Neben den hämagglutinierenden gibt es auch zytotoxische, leukagglutinierende, präzipitierende PNAK etc. Bis auf die aktive Hämagglutination sind jedoch alle übrigen Methoden mit der Möglichkeit großer Fehler behaftet (17). Außerdem besitzen die Tiere meist nur geringe Titer an solchen Antikörpern.

1.2. Testmethoden und Kontrolluntersuchungen

Bedingt durch die Eigenart der geometrischen Verdünnungsreihe, wird durch die ermittelte Titerstufe nur die ungefähre Konzentration der Antikörper angegeben. Der Schwankungsbereich liegt dabei etwa zwischen minus 25% und plus 50%. Berücksichtigt man noch Pipettierfehler, so sind Titerunterschiede nur mit mindestens 2 Stufen signifikant. Bei der Auswertung der Tabellen und Graphiken wurde dies berücksichtigt. Um rein methodische Fehler so gering wie möglich zu halten, wurde jeder Test im Doppelblind-Versuch durchgeführt. Außerdem wurden Seren einer Versuchsreihe stets im selben Testansatz untersucht.

Zur Verifizierung der oftmals sehr niedrigen Titer wie 1:2/1:4 etc. wurden stets Nullseren in geeigneter Anordnung mitgeführt. Ergebnisse, die auf unspezifischen Reaktionen und nicht auf einem echten PNAK Titer beruhen, sind deshalb mit Sicherheit auszuschließen.

1.3. Auswertung

Schwierig war die Auswertung der Ergebnisse. Bereits innerhalb einer einzigen Altersgruppe unbehandelter Hunde streuen die Titer oftmals 3 Titerstufen. Deshalb wurden in der Regel alle Einzelergebnisse in den Tabellen aufgeführt, um die Titer eines einzelnen Tieres genau verfolgen zu können. Aus demselben Grunde und auch wegen der zuvor erwähnten, methodisch bedingten, Ungenauigkeit der Hämagglutination wurden die Durchschnittswerte der Titerergebnisse in den Graphiken als negativer Logarithmus zur Basis 2 aufgetragen. Die Signifikanzberechnungen der Ergebnisse keimfreier Hunde

allerdings beziehen sich auf $P > 99\%$.

2. Diskussion der Ergebnisse

2.1. Entwicklung der PNAK im Laufe des Lebens

Die in der Literatur beschriebenen Untersuchungen an PNAK waren meist nur an erwachsenen Individuen vorgenommen worden. Da es Sinn dieser Arbeit war, einen Anhaltspunkt für die Beeinflussung der PNAK zu finden, war es notwendig, ihre Entwicklung während des ganzen Lebens einschließlich der Plazentargängigkeit zu verfolgen. Die strukturellen Charakteristika der verschiedenen Plazentarschranken könnten durchaus eine entscheidende Rolle bei der mütterlichen Immunisierung durch fetale Zellen spielen, auch wird mit dem Grad der Reduzierung der Plazentarschranke der Transport von Antigen und Antikörpern von der Mutter zum Feten erleichtert.

2.1.1. Diaplazentarer Transport

Eine direkte Passage (60) kann nur in Spezies erwartet werden, die nicht über mütterliche Plazentarschichten verfügen und deren fetale Plazentarmembranen nur geringfügig ausgebildet sind, wie bei Kaninchen, Meerschweinchen, Maus u. a.

Eine weitere Möglichkeit ist die des aktiven Transportes, der beim Kaninchen für IgM diskutiert wird. Injiziert man (54) in das Uteruslumen von 24 Tage trächtigen Kaninchen ein Brucella-Antiserum (IgM Titer = 1:10000), dann erscheint der größte Teil der injizierten Menge von IgM innerhalb 24 Stunden wieder im fetalen Serum. Man vermutet deshalb bei diesen Tieren einen aktiven Transport der IgM Antikörper, ähnlich dem der IgG Antikörper beim Menschen.

Die Plazenta des Schweines ist für γ -Globuline nicht durchgängig (133). Nur Schädigungen, wie z. B. mehrfache Injektion von E. coli O 8, er-

höhen die Durchlässigkeit. Ähnliche Auswirkungen an der Plazenta werden vermutlich auch durch andere Bakterien, z. B. *Brucella abortus* oder *Vibrio fetus* verursacht.

2.1.2. Resorption aus dem Dottersack

Sämtliche Spezies, die über einen relativ großen Dottersack verfügen, es sind dies u. a. Kaninchen, Ratte, Meerschweinchen und auch Hund, sind in der Lage, ausgedehnte Anteile einer absorptionsfähigen Membran während der Schwangerschaft gegenüber dem Gebärmutterlumen zu exponieren. Diese Membran ist befähigt, jede Art von mütterlichem Protein aufzunehmen, das in das Lumen der Gebärmutter gelangt (60). Bei Vögeln gelangen Antikörper von der Mutter direkt in den Eidotter und stehen dann kurz vor dem Schlüpfen dem Küken über Resorption (IgG) bzw. Entleerung des Dottersackes (IgM) in den Darm zur Verfügung (74).

Der Hund nimmt eine Zwischenstellung ein. Neugeborene dieser Spezies erhalten einen Teil der Immunglobuline diaplazentar und einen zweiten Teil über den Darm aus Dottersackresten. Die Aufnahme aus dem Dottersack beginnt nach der Geburt und dauert etwa 10 Tage an (60).

2.1.3. Aufnahme der PNAK aus der Milch

Neben aktivem und passivem diaplazentaren Transport beim Feten und der Möglichkeit des Neugeborenen, Gammaglobuline aus dem Dottersack aufzunehmen, kann das Neugeborene auch noch Antikörper aus der Milch resorbieren. Besonders Tiere, die über Plazenta und Dottersack keine Antikörper erhalten, werden auf diesen Weg angewiesen sein.

Die Resorption dieser Antikörper, die der IgM, IgA und IgG-Klasse zugehören, aus der Milch ist ein selektiver Vorgang und betrifft vorzugsweise IgG. Die Absorptionsfähigkeit dauert etwa 2 Tage (bei Pferd, Schwein und Rind) bzw. 18 Tage (bei der Ratte) und sistiert dann relativ schnell. Der Absorptionsblock stimmt zeitlich mit einer Funktionsänderung der Zottenepithelien im Dünndarm überein.

Die Tiere zeigen in den Tagen, da sie zur Antikörperabsorption fähig

sind, alle Anzeichen einer aktiven Pinozytose in den Dünndarmzotten. Durch Verabreichung von Cortison läßt sich die zelluläre Funktionsänderung so beschleunigen, daß sich bei der Ratte die Absorptionszeit auf etwa 7 Tage - also auf weniger als die Hälfte reduzieren läßt (60,68).

PORTER (91) untersuchte Schweine-Kolostrum nach Immunisierung der Muttertiere mit *E. coli*. Die Seren der adulten Schweine enthielten 2150 ± 240 mg% an IgG, 110 ± 30 mg% IgM und 180 ± 50 mg% IgA. Die Seren der Ferkel nach der Kolostrumaufnahme enthielten etwa 1200 mg% IgG, 100 mg% IgM und 400 mg% IgA. Im Kolostrum selbst waren 6000 mg% IgG, 300 mg% IgM und 2000 mg% IgA enthalten.

Das mit *E. coli* absorbierte Ferkelserum nahm nur an IgM ab, nicht aber in der Konzentration von IgA oder IgG. Aus dem Serum der erwachsenen Schweine konnte wiederum nur IgM, aus dem Kolostrum dagegen ein großer Teil der IgA-Globuline absorbiert werden. Das würde bedeuten, daß im Gegensatz zum Serum erwachsener Schweine und Ferkel, das Kolostrum vor allem Antikörper der IgA-Klasse gegen *E. coli* enthielt. Damit kann eine Eigenproduktion von IgA-Antikörpern in der Brustdrüse als sehr wahrscheinlich angenommen werden (91).

Es ist bekannt, daß IgA-Globuline ohne Antikörpereigenschaft, im Darm resorbiert werden können (51, 91). Das IgA der Muttermilch erscheint aber nicht im Ferkelserum. Als Erklärung bieten sich deshalb mehrere Möglichkeiten: Einmal, daß dieses IgA wegen seiner Antikörpereigenschaft nicht im Darm resorbiert wird. Weiterhin bestände die Möglichkeit eines speziellen Aufbaus, denn man weiß, daß die in der Brustdrüse sezernierten IgA-Antikörper gegenüber den normalen Serumantikörpern zusätzlich ein sogenanntes "sekretorisches Stück" (51, 91) enthalten, welches eine nicht immunologische Komponente darstellt. (Dies wäre eine Erweiterung der Theorie über den selektiven diaplazentaren Transport der Serum-Proteine von der Mutter auf den Feten.) Auch der Verlust der biologischen Aktivität während der Intestinalpassage wurde noch diskutiert (91).

2.1.4. Entwicklung der PNAK bei juvenilen Spezies

Muttersauen wurden mit verschiedenen Coli-Serotypen immunisiert und bei den von ihnen anschließend geworfenen Ferkeln die Gammaglobulinspiegel der spezifischen neugebildeten Antikörpertiter gegen E. coli (indirekte Hämagglutination) und die bakterizide Aktivität (PNAK!) untersucht (135). Es zeigte sich, daß 2 Tage alte Ferkel Gammaglobulinspiegel besitzen, die denen erwachsener Schweine entsprechen. Dieser Spiegel fällt bis zur 3. Woche auf etwa 25% ab und beginnt erst ab der 5. Woche wieder zu steigen. Die Antikörper gegen E. coli sind ebenfalls ab dem 2. Tage, aber nur bei Ferkeln geimpfter Mütter, in voller Höhe vorhanden und fallen ebenfalls bis zur 3. Woche stark ab. Ferkel nicht immunisierter Mütter besitzen diese Antikörper nicht. Die Bakterizidine, die der IgM-Klasse zugehören, treten dagegen nicht über. Sie erscheinen erst ab der 3. Woche, diesmal jedoch in gleicher Höhe bei Ferkeln immunisierter wie auch nicht immunisierter Muttersauen. Sie müssen also unabhängig von der Impfung der Muttertiere entstanden sein.

In ähnlicher Weise (76) fallen auch bei neugeborenen Kindern von Müttern der Blutgruppe O die Isoagglutinationstiter bis zur 3. Woche stark ab. Durch Eigenproduktion erfolgt im Alter von 2-4 Monaten wieder ein allmählicher Titeranstieg.

Eigene Ergebnisse stimmen mit Befunden der erwähnten Literatur überein. So konnte gezeigt werden, daß PNAK abhängig vom Aufbau der Plazentarschranke übertragen werden. Aktiver Transport, wie er für das Kaninchen beschrieben wurde, kann auch hier diskutiert werden. Außerdem konnte bei Kaninchen die Abhängigkeit der PNAK Titer Neugeborener vom mütterlichen Antikörperspiegel gezeigt werden.

Beim Schwein und Rind werden die PNAK über die Kolostralmilch in den ersten 2 Tagen übertragen. Bis zum Beginn der Eigensynthese, die etwa um die 3. Woche einsetzt, fällt der Titer anschließend leicht ab. Der Beginn einer Eigenproduktion von PNAK konnte deutlich an Ferkeln gezeigt werden, die ohne Kolostralmilch aufgezogen worden waren. Solche Tiere besitzen im Gegensatz zu normal gesäugten Ferkeln meßbare PNAK Titer erst ab der 3. Woche.

Beim Hund fällt auf, daß in eigenen Versuchen während der Kolostralmilchaufnahme nur Antikörper gegen Pferd gefunden wurden. Vielleicht ist dieses Phänomen mit der oben beschriebenen Resorption der PNAK aus Dottersackresten im Darmlumen zu erklären, denn die Zeitdauer des Auftretens (1-14 Tage nach Geburt) spricht dafür.

Die Entwicklung der PNAK beim Menschen konnte nicht lückenlos verfolgt werden, jedoch entspricht der Titerabfall um die 1.-3. Woche und der nachfolgende Anstieg den Erfahrungen anderer Autoren (76).

Ob einige der PNAK, die bereits beim neugeborenen Kaninchen anzutreffen sind, auf eine antigene Stimulierung der Feten zurückzuführen sind, konnte nicht geklärt werden.

In der Milch besitzen alle Tiere relativ hohe PNAK Titer. Allerdings fällt auf, daß insbesondere Kaninchen, also Tiere deren Plazenta für PNAK durchgängig ist, geringere Titer in der Milch aufweisen als solche Tiere, die auf Antikörper in der Milch angewiesen sind. Während die PNAK aus der Milch beim Schwein und Rind die Darmschranke passieren, sind sie beim Hund im Serum nicht mehr nachweisbar. Im Gegensatz zum Schwein enthält nun das Kolostrum des Hundes kaum IgM, sondern vorwiegend IgA-Antikörper (91). Da aber IgA andererseits nicht resorbiert, sondern in einer langsamen Darmpassage allmählich inaktiviert (94) wird, findet sich darin wohl die Erklärung, warum beim Hund im Serum auch nach Kolostrumaufnahme keine PNAK (Ausnahme PNAK gegen Pferd) auftauchen. Wie später besprochen, dürften diese PNAK einer lokalen Schutzfunktion im Dünndarm dienen.

Auffällig ist bei den Ergebnissen, daß alle Tiere um dieselbe Zeit, unabhängig davon, ob sie bereits als Neugeborene PNAK mitbekamen oder nicht, etwa um die 3.-5. Woche mit der Produktion der PNAK einsetzen. Dies legt die Vermutung nahe, daß es einen ubiquitären Auslösemechanismus geben könnte, der jedoch eine gewisse Anlaufzeit benötigt.

2.1.5. Verwandtschaftsbeziehungen

Eigene Untersuchungen darüber, ob verwandte Tiere wie Geschwister- und Elterntiere gleich hohe Titer ausbilden, zeigten, daß der Grad der Ver-

wandtschaft keine Bedeutung für die PNAK Titerbildung hat.

In den nachfolgenden Abbildungen (36 und 37) ist die Entwicklung der PNAK schematisch dargestellt.

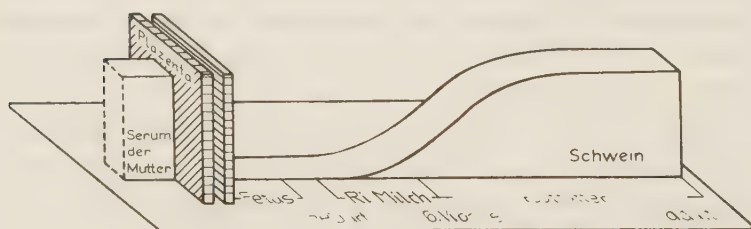


Abb. 36

Entwicklung der PNAK bei Ferkeln, die keine Muttermilch bekamen, sondern in den ersten Lebenswochen mit sterilisierter, konzentrierter Rindermilch aufgezogen wurden

Die Höhe der nicht schraffierten Balken gibt die PNAK Titer im Serum der Muttersau bzw. des Ferkels an.

Der Übersichtlichkeit wegen, wurden die verschiedenen PNAK nicht einzeln aufgeführt, sondern summarisch dargestellt. Die höchsten Werte (= 100%) sind die erwachsener Tiere. PNAK Titer juveniler Tiere sind entsprechend niedriger gezeichnet.

Für diese Graphik wurde nicht als Maßstab der negative Logarithmus der PNAK Titer zur Basis 2, sondern eine arithmetische Einteilung verwendet, d. h. der Titer 1:128 wurde viermal höher gezeichnet als der Titer 1:16. Die einzelnen Schichtdicken der Plazentaanteile wurden als schraffierte Querbalken dargestellt (siehe dazu Kap. Erläuterungen).

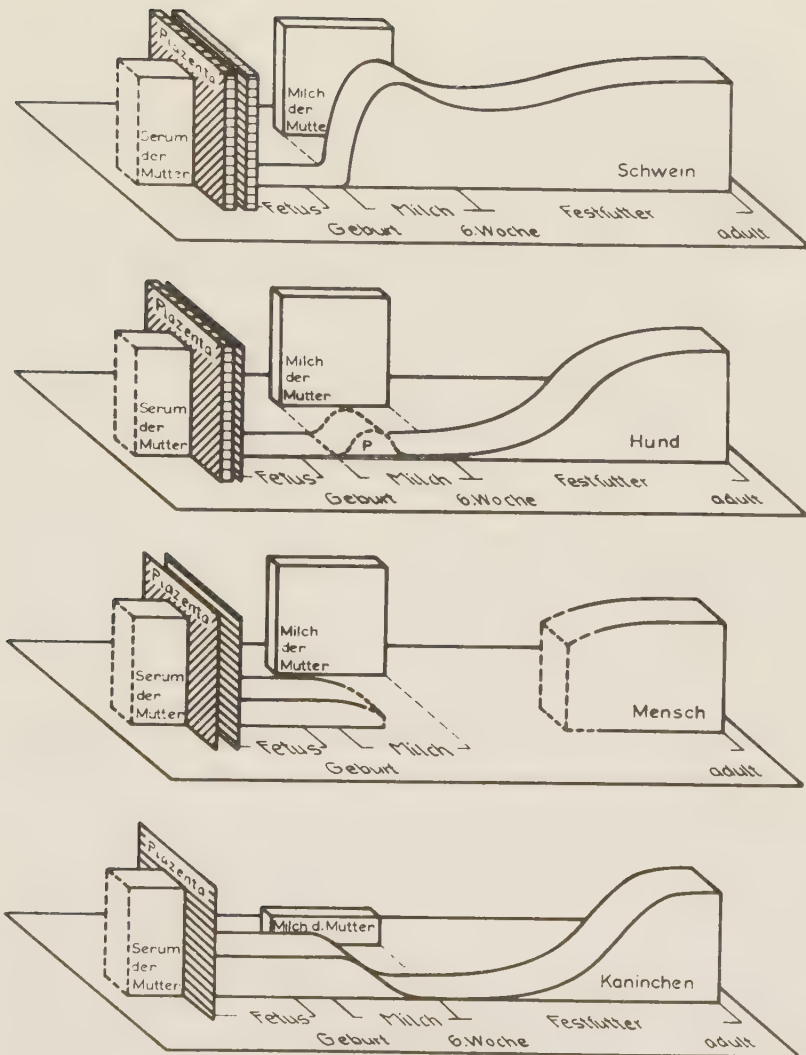


Abb. 37

Entwicklung der PNAK bei verschiedenen mit Muttermilch aufgezogenen Spezies im Laufe des Lebens

(siehe auch Legende zu Abb. 36)

2.2. Immunglobulinklasse der PNAK

Wie die eigenen Untersuchungen sehr deutlich zeigten (Abb. 14), sind die PNAK erwachsener Tiere und erwachsener Menschen zum größten Teil Antikörper der IgM-Klasse.

IgM-Gammaglobuline sind die Antikörper, die in der Phylogenese zuerst auftreten und als einzige Immunglobuline bei niedrigen Tieren zu finden sind (60). Offensichtlich haben IgM-Antikörper zwar primitive, aber durch ihren Aufbau wichtige Funktionen zu erfüllen. Im Laufe der Evolution entwickelten sie sich nun nicht im gleichen Maße wie die anderen Klassen weiter. Zwar gehören sie bei den hochentwickelten Säugetieren zu den zuerst und schnell auftretenden Antikörpern, weisen jedoch einen gewissen Mangel an Avidität (low affinity antibodies) und Spezifität, verglichen mit den übrigen Immunglobulinen auf.

Während die PNAK adulter Individuen in den eigenen Versuchen bis auf einen gewissen Resttiter, den auch andere Autoren (120) fanden und der durch 2-Mercaptoäthanol nicht zu entfernen war, als IgM-Antikörper bestimmt werden konnten, waren die PNAK menschlicher Neugeborener und die PNAK in der Milch stillender Mütter mit Hilfe spezifischer Antiseren bzw. 2-Mercaptoäthanol nicht zu identifizieren. Es muß diskutiert werden, ob diese Antikörper einer noch unbekannten Klasse angehören - was sehr unwahrscheinlich ist - oder aber, ob die verwendeten spezifischen Antiseren bzw. die angewandten Methoden insuffizient waren.

Man kann jedoch versuchen, über Analogieschlüsse die Immunglobulinklasse der PNAK neugeborener Individuen und die der Milch zu bestimmen:

So werden bei Menschen und Kaninchen die PNAK diaplazentar (eigene Ergebnisse siehe Kap. D 2.1.1.) übertragen. Schwein und Rind erhalten ihre PNAK über die Milch. Der neugeborene Hund dagegen erhält weder PNAK über die Plazenta noch über die Milch (Ausnahme: PNAK gegen Pferd), sondern bildet diese ab der 3. - 4. Woche selbst.

Nun haben viele andere Autoren allgemein die Entwicklung der verschiedenen Gammaglobulinklassen bei Feten und Neugeborenen verfolgt und es erscheint möglich, durch Vergleich mit deren Ergebnissen, Rückschlüsse auf die Art der PNAK neugeborener Individuen zu ziehen.

Bei der Untersuchung der Titer menschlicher Embryonen (44,123) von IgG, IgA und IgM in der Zeit von der 5. - 12. Schwangerschaftswoche fand man, daß diese Embryonen bereits im Alter von 10,5 Wochen IgM und im Alter von 12 Wochen IgG produzieren. IgA wurde nicht gefunden. Auf den Embryo wird aus dem Serum der Mutter dann allein IgG aktiv übertragen. Man vermutet sogar (60), daß nur deswegen IgG diaplazentar übertragen wird, um die Entstehung von Isoagglutininen, die zur IgM-Klasse zählen, rückkoppelnd oder kompetitiv zu verhindern.

Untersuchungen des menschlichen Kolostrums (60) ergaben, daß dieses nur IgG und IgA enthält und daß anzunehmen ist, daß ein Teil des IgA durch De-novo-Synthese aus Aminosäuren in der Brustdrüse selbst entsteht. Die Annahme stützt sich unter anderem auf das gelegentliche Vorkommen von Antikörpern in der Milch, die eine spezifische Bindungsfähigkeit für Erythrozyten-Antigene aufweisen und in der Blutbahn nicht nachgewiesen werden können.

Zu dieser De-novo-Synthese gibt es noch weitere interessante Studien am Schwein (15), an dem der Transfer von IgA, IgG und IgM über Kolostrum und Milch untersucht wurde. Man fand, daß nur geringe Mengen des IgG und IgM und 40% des IgA des Kolostrums in der Brustdrüse selbst synthetisiert werden, während bei der dünneren Milch 90% der IgA und IgM und 70% der IgG Moleküle aus der Eigenproduktion der Brustdrüse stammen.

Die Bedeutung der durch die Milch übertragenen Gammaglobuline zeigte ein Versuch (106), bei dem diese Globuline mit Ammoniumsulfat ausgefällt und dann an Ferkel ohne Kolostralmilch verfüttert wurden. Von den so behandelten Tieren überlebten 80 - 90%, von unbehandelten Vergleichstieren überlebten nur 20%.

Während die Ferkel vor Kolostralmilchaufnahme im Serum nur geringe Mengen von IgG (93, 96, 97) besitzen, enthalten die Ferkel nach Kolostralmilchaufnahme sowohl IgA als auch IgM und IgG in fast gleicher Höhe wie erwachsene Schweine. Nach der zweiten Lebenswoche beginnen bereits die IgM - Immunglobulin Titer aus eigener Produktion (27) zu steigen, während die Titer der über die Kolostralmilch aufgenommenen γ -Globuline, also IgA und IgG und auch IgM, weiterhin fallen (Abb. 38).

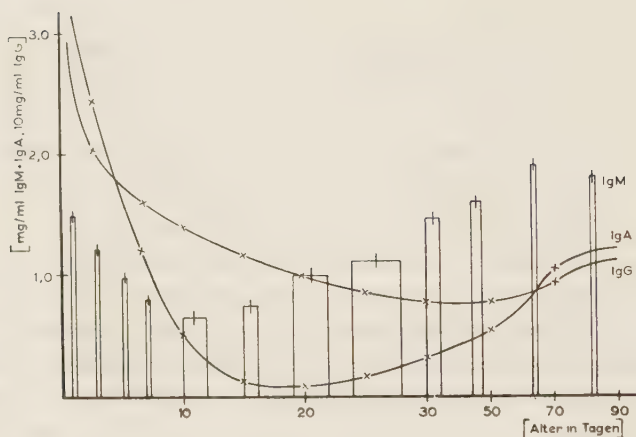


Abb. 38 Immunglobulinspiegel im Serum von Ferkeln nach Kolos-
trumaufnahme
(durchgezogene Linie = IgG u. IgA, Balken = IgM)

Modifiziert nach:

Curtis, J., and Bourne, F. J.
Immunglobulin quantitation in sow serum, co-
lostrum and milk and the serum auf young pigs.
Biochem. Biophys. Acta, 236, 319 - 332 (1971)

Die eigenen Ergebnisse lassen sich im Hinblick auf die zitierten Litera-
turangaben soweit interpretieren, als die nicht bestimmbar PNAK neuge-
borener Individuen vermutlich IgG Antikörper sind. Denn nur IgG wird beim
Menschen diaplazentar übertragen und kann auch aktiv selbst von Feten ge-
bildet werden. IgM kann ebenfalls selbst gebildet werden, wäre dann aber
in unseren Versuchen mit 2-Mercaptoethanol zu absorbieren gewesen. Daß
diese PNAK zur IgE-Klasse zählen ist unwahrscheinlich, denn IgE wird bei
56° C inaktiviert. Die PNAK in der Milch sind aus ähnlichem Grund ver-
mutlich IgA-Antikörper. Außerdem konnte bei der Milch immunoelektrophore-
tisch nur IgA, beim Neugeborenen nur IgG gefunden werden. Der nicht be-
stimmbar geringe Resttiter der Seren erwachsener Spezies ist wahrschein-
lich ebenfalls einer dieser beiden Klassen zuzuordnen.

Nachdem in den eigenen Untersuchungen die PNAK juveniler, ohne Kolostrum gefütterter Schweine etwa zu demselben Zeitpunkt (3. Wo.) auftreten wie bei den Untersuchungen von CURTIS die IgM-Globuline, ist anzunehmen, daß auch die PNAK beim juvenilen Schwein zur IgM-Klasse zählen.

2.3. Auslösemechanismen der PNAK Produktion

2.3.1. Einfluß von Antigen im Futter

Für die Bildung der PNAK kommen als wahrscheinlichste Stimuli Antigene im Futter (evtl. ähnlich der Bildung von Reaginen des IgE-Typs durch Nahrungsmittelallergene (46, 47) oder Besiedelung des Körpers mit lebenden Bakterien oder anderen Organismen in Betracht.

Während mehrere Autoren bereits den Einfluß im Futter enthaltener Antigene auf die Bildung spezifischer Antikörper zum Gegenstand ihrer Untersuchungen gemacht hatten, war es das Ziel dieser Arbeit, zu untersuchen, ob auch die Produktion unspezifischer PNAK durch das Futter beeinflusst wird.

Verfüttert man an keimfreie Ferkel (114) synthetische Nahrung, so kann man im Serum dieser Tiere keine Antikörper gegen ubiquitäre Bakterien, Viren und Proteinantigene finden, während keimfreie Tiere, die zwar sterilisiertes aber gewöhnliches Futter wie z.B. Rindermilch bekamen, Titer gegen Milch- und Bakterienantigene aufweisen (92). Keimfreie Mäuse (59, 139), die synthetisches Futter bekamen, besitzen wesentlich weniger Gammaglobuline - nur noch IgM-Antikörper sind zu finden - als gleichaltrige keimfreie normal genährte Tiere. In anderen Versuchen (138) zeigte sich, daß die Reaktion der Mäuse auf Fütterung mit synthetischem Futter eine Eigenart nur dieser Tiere ist, denn die naheverwandten Ratten - ebenfalls keimfrei gehalten und mit synthetischem Futter ernährt - zeigen in ihren PNAK Titern keinen Unterschied gegenüber konventionellen Ratten. Als Ausdruck eines Teils der sehr geringen, aber eben doch vorhandenen IgM-Produktion findet sich bei den vollsynthetisch ernährten keimfreien Mäusen (138) in der Milz ein - gegenüber dem normaler Tiere - etwa auf die Hälfte reduzierter Titer unspezifischer background plaques (Schaferythrozyten hämolysierende PNAK). Ebenfalls einen auf etwa 50%

verringerten Titer solcher PNAK findet man bei keimfreien Tieren die normales Futter bekamen.

Es scheint also, daß 50% dieser Schaferythrozyten hämolysierenden Antikörper durch Bakterien induziert werden, während für die Entstehung der übrigen 50% weder bakterielle noch diätäre Stimulation nachgewiesen werden konnte. Aus diesem Grunde vermutet man, daß neben der bakteriellen und diätären Stimulation ein Teil der stets vorhandenen IgM-Produktion auf "zufälliger" Bildung beruht.

Daß Antikörper auf Reiz durch in der Nahrung enthaltene Antigene gebildet werden, zeigte ein Versuch, bei dem man keimfreie Mäuse mit *Vibrio cholerae* einmal enteral, zum zweiten parenteral immunisierte (31). Im ersten Falle konnten spezifische IgA-Antikörper im Darm nachgewiesen werden. Im zweiten Fall, also bei parenteraler Impfung, fand man im Darm keine dieser Antikörper.

TOMASI et al. (122) zeigten, daß Personen die an spezifischem IgA-Mangel leiden, hohe Antikörpertiter gegen Globuline aus der Kuhmilch besitzen. Außerdem finden sich bei ihnen noch Antikörper gegen andere Milchproteine. Man glaubt deshalb, daß das normalerweise im Darm sezernierte IgA die Aufgabe hat, die Resorption von Fremdeiweiß zu verhindern.

Kinder, die im Alter von 1 Woche mit abgetöteten oder lebenden Bakterien von *E.coli* O 86 peroral kontaminiert wurden, bildeten gegenüber einer unbehandelten Kontrollgruppe bei Immunisierung mit lebenden *E.coli* O 86, Isoagglutinin-Titer gegen die Blutgruppe A und B signifikant früher aus (76). Die nicht behandelte Kontrollgruppe und Kinder, die nur mit abgetöteten Keimen kontaminiert worden waren, bildeten Isoagglutinine erst ab dem 2. Monat. Dies beweist nach LODINOVA (76), daß zwar Antigene des Futters eine Antikörperbildung induzieren können, jedoch für die Bildung der Isoagglutinine ein langfristiges Verweilen von großen Antigenmengen im Darm notwendig ist. D.h. es müssen ständig sich vermehrende Darmbakterien mit Blutgruppenantigenen vorhanden sein, damit eine Immunantwort auf natürliche Weise über den Darm erfolgen kann.

Im Gegensatz dazu stehen Untersuchungen, bei denen Hühner mit inaktivierten *Pseudomonas*kulturen gefüttert wurden (79). Hier fand man eine anschließende Steigerung der Agglutininproduktion gegen diese Bakterien, obwohl die Keime abgetötet worden waren.

In allen oben beschriebenen Versuchen waren keimfreie Tiere verwendet und vor allem Antikörper gegen (im Futter enthaltene-) Bakterienantigene (Totvaccine!) bestimmt worden. Damit wurden jedoch Parameter ins Spiel gebracht, die für normale Tiere nicht zutreffen, denn keimfreie Tiere reagieren auf Antigen-Stimulation zwar langsam, aber besonders stark (Kap. D 2.3.2. und D 3.3.). Außerdem werden keimfreie Tiere in der Regel mit sterilisierten Rindermilch-Konzentraten aufgezogen. Es fehlt ihnen deshalb die physiologische Immunabwehr der IgA-Antikörper im Darm.

Bei den eigenen Versuchen an normal aufgezogenen Tieren konnte nicht beweisend gezeigt werden, daß Futter einen Einfluß auf die Bildung spezifischer (gegen das Futterantigen) oder unspezifischer (gegen andere Antigene) PNAK hat. Sicher ist, daß alle untersuchten Hunde, obwohl streng unterschiedlich und getrennt gefüttert, PNAK Titer gegen alle untersuchten Antigene (beachte Aussage-Genauigkeit der Hämagglutination Kap. D 1.2.) in gleicher Höhe ausbilden. Wenn LODINOVA für die Bildung von PNAK durch orale Stimulierung das langfristige Verweilen großer Antigenmengen im Darm fordert, so können unsere Versuche dies nicht bestätigen, denn die Tiergruppen wurden ausschließlich mit einer einzigen Fleischart in großer Menge gefüttert. Die von LODINOVA geforderte Bedingung wurde also erfüllt und trotzdem bildeten die Tiere gegen das verfütterte Fleisch keine höheren Titer als gegen das nichtgefütterte Fleisch.

Eine sehr einleuchtende Erklärung dafür wäre eventuell, daß die Bildung der untersuchten PNAK bereits vor Fütterungsbeginn angelaufen ist und deshalb ein weiteres Antigen keinen monospezifischen Einfluß mehr hat.

Es fällt auf, daß alle Tiere erst ab dem Zeitpunkt mit der Bildung von PNAK einsetzen, da zusätzlich zur oder anstelle von Milch, Festfutter gegeben wird. Es ist einleuchtend, daß die Muttermilch kaum antigen wirken kann, denn sie ist allogen, steril und optimal verdaulich.

Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die konventionellen und auch die keimfreien Hunde, - nicht aber die Schweine - bei längerer Milchfütterung erst später PNAK bilden. Ob diese Ergebnisse signifikant sind, kann wegen der geringen Tierzahl nicht entschieden werden, aber auch DRAPER (32) erwägt eine evtl. Beziehung zwischen dem Zeitpunkt der Festfutter-Aufnahme und dem Auftreten von PNAK beim Kaninchen. Wenn also der Zeitpunkt der Fleischfütterung von Bedeutung ist, muß das Futter irgendwie

antigen wirken, auch wenn dabei nur die Bildung verschiedenster unspezifischer Antikörper stimuliert wird.

Diese Versuche zeigen also, daß Hunde im Gegensatz zu Mäusen und Schweinen nicht zu den Tieren gehören, die bei geeigneten Versuchsanordnungen auf Nahrungsmittel-Antigene spezifisch antworten können. Vielleicht hängt dies damit zusammen, daß gerade Mäuse und Schweine diejenigen Antikörper, die sie in der ersten Lebenswoche benötigen, über die Milch aufnehmen und deshalb der Darm dieser Tiere imstande sein muß, größere Proteine unverändert zu resorbieren. Eine weitere Erklärung mag sein, daß die Hunde als Fleischfresser auf eine stärkere Proteinschranke bzw. Proteinverdauung angewiesen sind.

Die Versuche mit Fleischfütterung 6 Wochen alter Ratten über 3 Monate hinweg erbrachten zuerst ein erstaunliches Ergebnis, denn von 12 gefütterten Tieren bildeten 7 Tiere deutliche, allerdings unspezifische - nicht gegen das gefütterte Fleisch gerichtete - PNAK Titer. Die Wiederholung dieser Versuche und auch die Untersuchung "geboosterter" bzw. synthetisch ernährter Ratten konnte die ersten Ergebnisse jedoch nicht bestätigen. Weder die präformierten natürlichen Xeno-Hämagglutinine noch Präzipitine oder Lysine waren signifikant (gegenüber den mit normalem Futter, pflanzlicher Herkunft, ernährten Tieren) erhöht. Auch wilde Ratten, von denen man annehmen muß, daß sie besonders viel verschiedenartige Nahrungsantigene aufnehmen, weichen in ihren PNAK Titern von denen der Labortiere nicht ab. Sehr wahrscheinlich lassen sich auch diese Ergebnisse mit einem speziellen, für Antigen undurchlässigen Aufbau des Darmtraktes der Ratte erklären (138).

Auffällig war, daß mit Pferdefleisch gefütterte Hunde anfänglich einen besonders starken Anstieg der PNAK gegen menschliche Erythrozyten der Blutgruppe B zeigten. Auch bei Untersuchungen über Verwandtschaftsbeziehungen konnte ein paralleler Abfall bzw. Anstieg der PNAK gegen MB und P festgestellt werden. Weiterhin traten die PNAK gegen P bei der Schäferhundfamilie besonders früh in Erscheinung und auch beim Schwein fielen die hohen PNAK Titer gegen P auf. Es ist nicht auszuschließen, daß diese Titererhöhungen durch eine stattgefundene bakterielle oder virale Infektion verursacht wurden. Andererseits könnte aber auch das frühere Einsetzen mit der Festfütterung (die Schäferhunde erhielten etwa ab 5. Wo-

che zusätzlich zur Muttermilch: Maizena, Eier, Hackfleisch etc.) die Ursache sein. Auch muß die Möglichkeit, daß die PNAK gegen P mit den Blutgruppen Antigenen des Menschen kreuzreagieren, in Betracht gezogen werden.

Da bei allen untersuchten Tieren, auch bei ganz spezifisch ernährten Hunden, die PNAK gegen alle getesteten Antigene in gleicher Menge und etwa zum selben Zeitpunkt entstanden, ist die Annahme berechtigt, daß als Auslösemechanismus der spezifischen PNAK nur unspezifische Stimuli - seien es nun spezielle Antigene des Futters oder auch verschiedene Mikroorganismen - in Frage kommen.

Daß ausschließlich nur bestimmte Bakterien für die PNAK Bildung verantwortlich zu machen sind, ist unwahrscheinlich, denn in diesem Falle würden die PNAK Titer bereits zu einem früheren Zeitpunkt oder aber zu unregelmäßigeren Zeiten gebildet werden.

Um den Einfluß der Bakterien näher abzuklären, wurden die PNAK Titer keimfreier Tiere untersucht.

2.3.2. Keimfreie Tiere

Wie im vorhergehenden Abschnitt bereits angesprochen, ist es bekannt, daß keimfreie Tiere wesentlich weniger Antikörper, Gammaglobuline und lymphatische Gewebe besitzen, als konventionelle Tiere (111,117,125). Außerdem ist dementsprechend das Darm- und Milzgewicht sowie das Gewicht des Thymus und der Bursa fabricii erniedrigt.

Oft antworten keimfreie Tiere verzögert, dann allerdings umso stärker auf einen Antigenreiz. Schon geringfügige Infektionen können deshalb zum Tode führen, weil die Immunantwort zu spät kommt (60).

In dieser Arbeit sollte nun untersucht werden, ob diese Tatsachen auch einen Einfluß auf die Bildung der PNAK Titer ausüben. Außerdem sollte an gnotobiotischen Säugetieren die Antwort auf Kontamination mit einigen wenigen definierten Bakterien studiert werden. Von Bedeutung waren für unsere Überlegungen die Arbeiten SPRINGERS, MERKENSCHLAGERS, LÖSCHS und einiger weiterer Autoren, die bei etwas enger gestellter Fragestellung die PNAK gegen die menschlichen Blutgruppen an keimfreien Hühnern untersucht hatten. SPRINGER et. al. (111,112) zeigten, daß keimfreie Hühner wesent-

lich später Antikörper gegen die menschliche Blutgruppe B bilden als konventionell gehaltene Tiere. Bei Kontamination der keimfreien Tiere mit *E. coli* O 86 stiegen diese Antikörpertiter gegen die Blutgruppen jedoch sofort sprunghaft an (Abb. 39 und 4a).

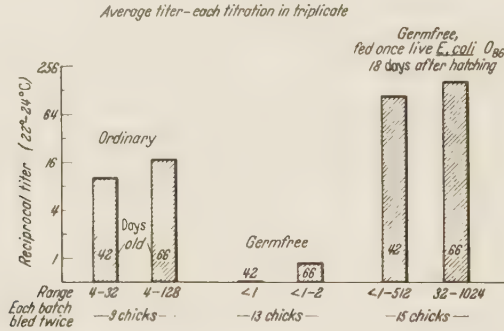


Abb. 39 Development of anti-human blood group B agglutinins in White Leghorn chicks (one hatch)

Nicht nur *E. coli* O 86, sondern auch andere Bakterienstämme bewirkten in mehr oder weniger starkem Ausmaß denselben Effekt (Abb. 4a).

Genus	Strains tested	One activity			Several activities				Inactive
		A ₁	B	H(O)	A ₁ BH(O)	A ₁ B	A ₁ H(O)	BH(O)	
<i>Escherichia</i>	135	8	18	22	6	3	3	4	71
<i>Salmonella</i>	19	1	2	9	0	0	1	0	6
<i>Arizona</i>	3	0	1	1	0	0	0	1	0
<i>Klebsiella</i>	42	2	6	4	3	1	1	5	20
<i>Citrobacter</i>	24	2	2	2	0	2	2	3	11
<i>Pasteurella</i>	8	0	1	0	0	0	0	2	5
<i>Proteus</i>	20	0	6	2	0	0	0	1	11
<i>Pseudomonas</i>	15	1	1	2	0	0	1	0	10
<i>Serratia</i>	2	0	0	2	0	0	0	0	0
<i>Alcaligenes</i>	8	0	0	0	0	0	1	1	6
<i>Shigella</i>	5	0	0	0	0	0	0	0	5
<i>Herellea</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0
	282	14	38	44	9	6	9	17	145

Abb. 40 Distribution of blood group activity among bacteria tested

Abb. 39 u. 40 aus: SPRINGER G.F.:

Die Beziehung blutgruppenaktiver Substanzen zu Bakterien, höheren Pflanzen und Viren. Immunchemie, Springer Verlag, Heidelberg 1965

Während SPRINGER nur die gegen menschliche Blutgruppen gerichteten Isoagglutinine (PNAK) bestimmte, untersuchten MERKENSCHLAGER und LÖSCH (79) summarisch den Gammaglobulingehalt (aufgeschlüsselt nach IgM, IgG, und IgA). Insbesondere versuchten sie herauszufinden, ob zwischen Tieren, die absolut keimfrei gehalten wurden und solchen, die mit ein, zwei oder drei Keimen besiedelt worden waren, Titerdifferenzen auftreten. Es zeigte sich, daß kein signifikanter Unterschied zwischen Mono- Di- und Tribioten, ein deutlicher Unterschied jedoch zwischen der Gruppe der gnotobiotischen und Gruppe der konventionellen Tiere besteht (Abb. 41).

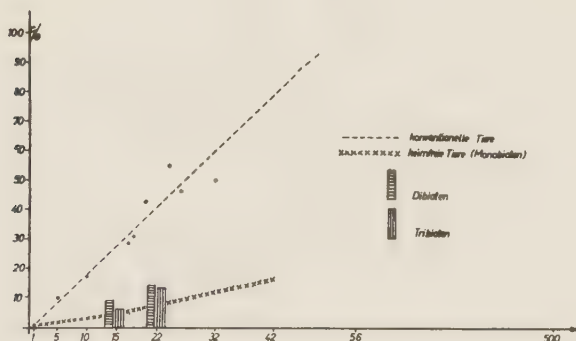


Abb. 41 IgM-Gehalte (%) im Serum konventioneller, mono-, di- und tribiotischer Mastküken. 100% = IgM-Gehalt in einem Serumpool acht Wochen alter Mastküken

aus: MERKENSCHLAGER, M. et. al.,
Immunglobulingehalte im Serum
junger, gnotobiotischer Mastküken.
Z. für Tierphys., Tierernähr. u.
Futtermilchkunde, 22, 337 (1967)

In einer anderen Arbeit untersuchte LÖSCH den Einfluß der Konventionalisierung auf die Gammaglobulintiter keimfreier Hühner (Abb. 42).

Keimfreie Küken, die am 42. Tage in die normale Umwelt versetzt wurden (75), beginnen nach einer kurzen Anlaufzeit mit einer hochgradigen Immun-

globulinsynthese. Der IgM Spiegel steigt in 4 Tagen von 12% auf 55% und in weiteren 3 Tagen auf 160%, also auf das 1,6fache des IgM Spiegels gleichaltriger Kontrolltiere an. Ein ähnliches Verhalten zeigt auch IgG.

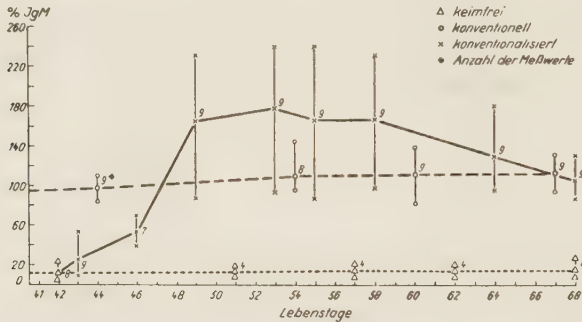


Abb. 42 Synthese von IgM bei keimfreien Küken vor und nach Konventionalisierung

aus: LÜSCH, H, et. al.,
Die Immunglobulingehalte keim-
freier Küken während der Kon-
ventionalisierung.
Z.f. Versuchskunde, 12, 58-67
(1970)

Andere Autoren (67), die mit keimfreien Mäusen arbeiteten, fanden 2-3 Wochen nach Immunisierung dieser Tiere mit abgetöteten E. coli Bakterien über die Norm hohe IgM-Globulinspiegel.

Die eigenen Untersuchungen stimmen mit den Erfahrungen von SPRINGER überein. So konnte gezeigt werden, daß nicht nur Hühner, sondern auch Säugetiere, in unserem Falle keimfreie Beagles bei fehlender bzw. nur geringfügiger bakterieller Besiedelung niedrigere PNAK Titer bilden (Abb. 43).

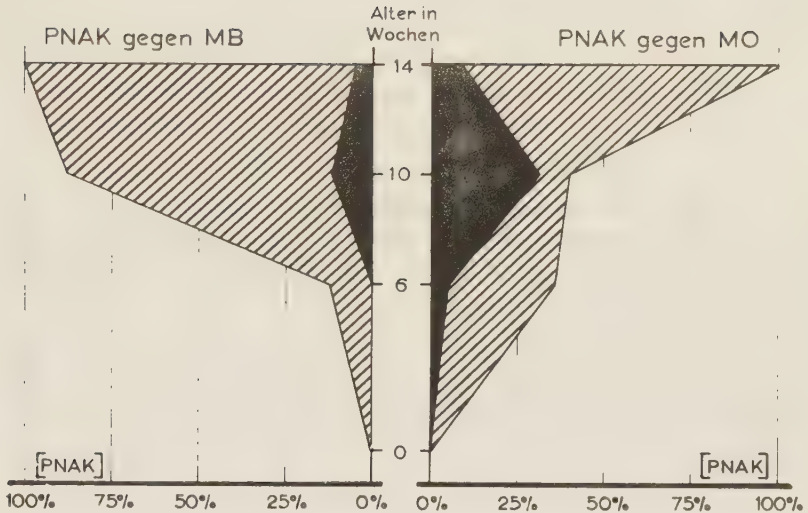


Abb. 43

Schematische Darstellung von Mittelwerten der gegen menschliche Blutgruppen B (MB) und O (MO) gerichteten PNAK Titer, bei keimfreien und konventionellen Hunden

100% = höchste PNAK Titer konventioneller Tiere, dunkles Feld = keimfreie Tiere, schraffiertes Feld = konventionelle Tiere
(Arithmetischer Maßstab!)

Allein die PNAK Titer gegen menschliche Blutgruppenantigene waren signifikant erniedrigt. Alle anderen Titer, also die der gegen Pferde-, Schweine- und Kaninchenerythozyten gerichteten PNAK, waren im Vergleich zu konventionellen Kontrolltieren nicht oder sehr gering verändert.

Als Erklärung bieten sich verschiedene Überlegungen an. So könnte die bakterielle Besiedelung speziell nur auf diese untersuchten PNAK keinen Einfluß haben - eine These die sehr unwahrscheinlich ist!

Da die Tiere ab der 3. bis 8. Woche (siehe Kap. C 5.7.) mit verschiedenen Keimen kontaminiert wurden, bestände auch noch die Möglichkeit, daß nur

spezifisch mit Pferd oder Schwein kreuzreagierende Bakterien Auslösemechanismus waren. Auch dies scheint unwahrscheinlich, denn jede der 3 keimfreien Gruppen war zu einem anderen Zeitpunkt und zudem mit jeweils verschiedenen Bakterien kontaminiert worden. Eine Gruppe kam sogar erst um die 9. Woche, zu einem Zeitpunkt da schon längst PNAK nachzuweisen waren, mit Bakterien in Kontakt!

Interessant ist, daß die keimfreien Tiere gegen Ende des Versuches, der in Abb. 43 nicht mehr dargestellt ist, ebenfalls die gleichen PNAK Titer wie konventionelle Tiere erreichen, allerdings mit einer Verzögerung von etwa 2 Wochen (siehe Kap. C 4.1.).

Auch die übrigen untersuchten keimfreien Tiere, Schwein, Katze und Kaninchen zeigten niedrigere Titer als vergleichbare konventionelle Tiere. Diese Ergebnisse müssen allerdings wegen der geringen Versuchstierzahl unter Vorbehalt diskutiert werden.

Der Versuch, die PNAK der bereits kontaminierten gnotobiotischen Hunde mit den bei diesen gefundenen Bakterien aus dem Serum zu adsorbieren, brachte nur einen Teilerfolg. Nur mit großen Antigenmengen waren allein die Titer gegen Schwein zu erniedrigen. Nach BUSCHMANN (20) spräche dies, sofern die PNAK durch diese Bakterien induziert wurden, für eine unspezifische Entstehung. Aber es ist bekannt, daß zur Absorption von bakteriellen Antikörpern aus dem Serum stets große Antigenmengen nötig sind. Außerdem ist sicherlich eine unspezifische Absorption dieser Immunglobuline an bestimmten Oberflächenproteinen der im Test verwendeten Bakterien möglich, so daß auch aus diesem Grunde keine weitere Aussage gemacht werden kann.

Die Ergebnisse der Untersuchung keimfreier Tiere zeigen somit, daß die Bakterien auf die Bildung bestimmter aber nicht aller PNAK einen stimulierenden, aber nur unspezifischen Einfluß haben. Da die PNAK auch bei Abwesenheit lebender Bakterien entstehen, allerdings mit einer zeitlichen Verzögerung, darf man unter der Voraussetzung, daß ein nicht-antigener Stimulus ausgeschlossen wird, annehmen, daß Antigene im Futter (Fleisch oder abgetötete Bakterien etc.) ebenfalls Stimuli für eine Antikörperbildung sein können. Einen weiteren Aufschluß für den Einfluß von Bakterien brachte das Verhalten der PNAK bei Konventionalisierung.

LÜSCH konnte bei keimfreien Küken (Abb. 42) zeigen, daß nach der Konven-

tionalisierung ein starker Gammaglobulinanstieg erfolgt. In den eigenen Untersuchungen am Hund wurde nun nicht der Gammaglobulintiter, sondern der Titer spezifischer PNAK bestimmt.

Dieser spezifische Titer stieg nach der Konventionalisierung nicht an, sondern blieb gleich oder fiel sogar.

Als Erklärung bietet sich die Tatsache an, daß die Hunde schon relativ alt waren als sie in die normale Umwelt versetzt wurden und bereits Titer erwachsener Tiere erreicht hatten. Eine weitere Steigerung war deshalb kaum noch möglich gewesen. Zum anderen waren die Tiere bereits im Alter von 10-12 Wochen mit Bakterien besiedelt (gemäß Definition als Di- bzw. Tribioten zu bezeichnen). Obwohl diese Kontamination nach MERKEN-SCHLAGER (79) keinen Einfluß haben soll, war der Titeranstieg vielleicht unbemerkt oder durch die allmählich zeitlich verzögerte Besiedelung nur wesentlich langsamer und dadurch für den Untersucher unauffällig erfolgt. Eine dritte Möglichkeit, daß eine "Depressionswirkung" - hervorgerufen durch plötzlichen Kontakt mit sehr viel Bakterienantigenen - durch die Konventionalisierung kompensiert wurde und der PNAK Titer deshalb unverändert blieb, wird im nächsten Kapitel besprochen.

Zu diskutieren wäre noch inwieweit der plötzliche Kontakt keimfreier Tiere mit Bakterien zwar zu einer Erhöhung der IgM- und IgG-Spiegel führt, aber nicht unbedingt gleichzeitig eine vermehrte Bildung von PNAK bedingt. Wie schon besprochen, reagiert ein keimfreies Tier zwar verzögert, aber überschießend auf einen Antigenreiz und deshalb könnte der größte Teil des neugebildeten Gammaglobulins nur aus spezifischen Antikörpern gegen die Bakterien bestehen.

2.3.3. Immunisierung mit Bakterien

Wie die Untersuchungen an keimfreien Tieren gezeigt haben, üben Bakterien einen maßgeblichen Einfluß auf die Entstehung der PNAK aus. Wenn keimfreie Tiere geringere PNAK besitzen oder die Titer erst zu einem späteren Zeitpunkt produzieren, taucht zwangsläufig die Frage auf: Welchen Einfluß hat die Übermäßige Zufuhr von Bakterien?

In Anlehnung an die Arbeiten SPRINGERS wählten wir ebenfalls E. coli 0 86-

Stämme für unsere Versuche. Bisher waren vor allem PNAK gegen die menschliche Blutgruppe B, einem überall im Tier- und Pflanzenreich vertretenem Antigen (30,42,111), im Vordergrund der Untersuchung gestanden. In dieser Arbeit wurde nun versucht nicht nur die Reaktion der gegen Blutgruppe B gerichteten, sondern auch die Titer gegen verschiedene tierische Erythrozyten nach Immunisierung der Kaninchen mit E. coli O 86 zu verfolgen.

Besonders groß erschien die Wahrscheinlichkeit, daß junge Tiere im Alter zwischen 4 und 8 Wochen, zu einem Zeitpunkt also, da sie bereits immunologisch kompetent sind, aber noch keine PNAK besitzen, auf eine solche Behandlung mit einer frühzeitigeren Ausbildung der PNAK Titer reagieren würden. Als Vergleichstiere wählten wir 12 und 32 Wochen alte Tiere.

Nach der Immunisierung mit E. coli O 86 stiegen die Titer gegen die Blutgruppe B, aber auch die gegen Blutgruppe O, bei den 4 und 12 Wochen, nicht aber bei den 32 Wochen alten Tieren, deutlich an (Abb.44). Auf die Bildung der anderen untersuchten PNAK hatte die Immunisierung keinen Einfluß. Es zeigt sich auch hier wieder, daß nur die PNAK gegen menschliche Blutgruppen von einer bakteriellen Besiedelung besonders abhängig zu sein scheinen.

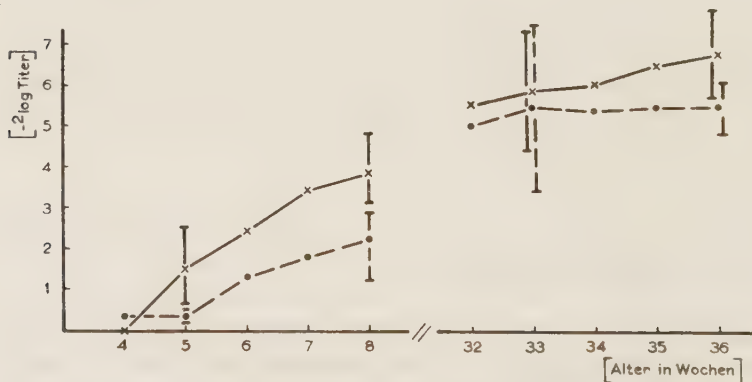


Abb.44 Verhalten der PNAK Titer gegen MB bei juvenilen und erwachsenen Kaninchen nach der Immunisierung mit E. coli O 86

unterbrochene Linie = nicht behandelte Kontrolltiere

Auffallend war, daß junge Kaninchen niedrigere Titer ausbilden als ältere Tiere. Außerdem sieht es so aus, als ob bei älteren Tieren nach dem Erreichen bestimmter Titerhöhen keine weiteren PNAK mehr gebildet werden. Bei erwachsenen Kaninchen und bei den 12 Wochen alten Tieren ist am Ende der Versuche sogar eine Depression der Titer festzustellen. Auch Tiere die nach einer früheren Immunisierung nochmals geboostert wurden, zeigen keinen Titeranstieg.

Diese eigenen Ergebnisse stimmen überein mit Untersuchungen anderer Autoren insbesondere von TLASKALOVA et.al. (120,121).

TLASKALOVA et.al. (121) immunisierten junge Kaninchen verschiedener Altersstufen mit abgetöteten E. coli O 86 (Abb.45). Die Kraft der Antwort und die Höhe der Titer waren direkt proportional zu dem Alter der Kaninchen.

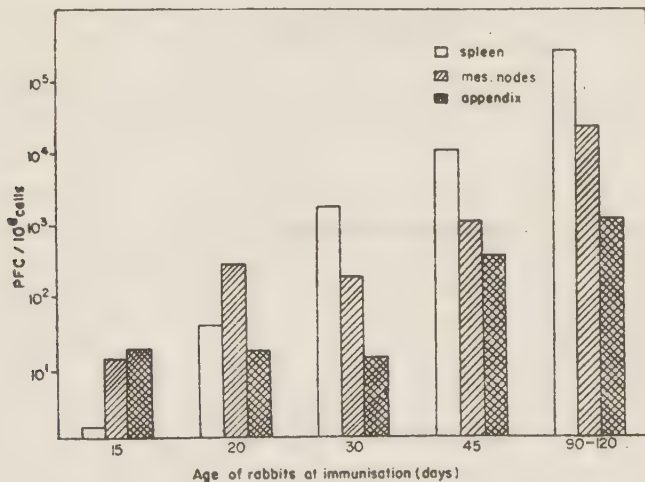


Abb.45 Height and site of antibody formation in rabbits of different age after i.v. immunization with E.coli O 86

aus: TLASKALOVA, H. et.al.:

Ontogenetic development of antibody formation in response to different doses of gram-negative microorganismus in young rabbits
Folia Microbiol. 14, 578-587 (1969)

Dieselben Autoren (120) untersuchen keimfreie Ferkel nach peroraler (über Trinkwasser) Monokontamination mit lebenden *E. coli* O 86. Nach 5 Tagen konnten bereits im Serum Bakterizidine gegen *E. coli* O 86 festgestellt werden und nach 10 Tagen auch agglutinierende Antikörper mit Hilfe der indirekten Hämagglutination. Etwa am 15. Tag wurden außerdem PNAK gegen die Blutgruppen B und O, nicht aber gegen die Blutgruppe A gefunden. Keimfreie Ferkel, die nicht mit *E. coli* assoziiert worden waren, bildeten diese PNAK nicht (Abb.46).

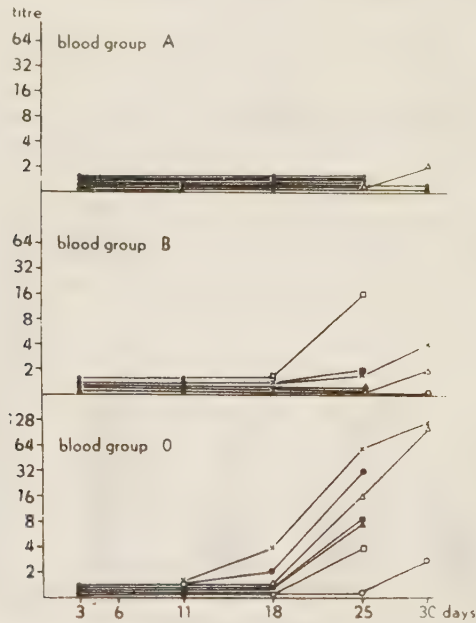


Abb.46 Formation of heterohemagglutinins against human erythrocytes of main blood groups A, B, O in piglets monocontaminated with *E. coli* O 86

aus: TLASKALOVA, H. et al.:

The immune response of germfree piglets after peroral monocontamination with living *E. coli* Strain O 86
Folia Biologica (Praha) 16, 177-187 (1970)

Dabei wurden die Titer gegen die Blutgruppe O - im Gegensatz zu den Arbeiten SPRINGERS - früher und in stärkerem Maße gebildet.

Auch andere Autoren (76), die keimfreie Schweine mit lebenden E. coli O 86 am 3. Lebenstage besiedelten, beobachteten am 17. Tag bereits PNAK gegen menschliche Erythrozyten.

Ähnliche Studien sind auch am Menschen bekannt geworden (76). So wird beschrieben, daß Kinder, denen im Alter von 1 Woche lebende E. coli O 86 oral zugeführt wurden, bereits 7 Tage später Isoagglutinine gegen die Blutgruppen A und B gebildet hatten, während eine Vergleichsgruppe, die mit abgetöteten Bakterien behandelt wurde, erst im Alter von 2 Monaten die Isoagglutinine aufwies. Im ersten Fall konnten spezifische Antikörper gegen E. coli ebenfalls nach 7 Tagen, im zweiten Falle erst nach 6 Monaten festgestellt werden.

Diese Tatsache, daß Antikörper gegen E. coli erst im 6. Monat, die Isoagglutinine aber bereits im 2. Monat nachgewiesen werden konnten, ist ein weiterer Beweis dafür, daß Bakterien zwar von großer Bedeutung sind, aber nicht die einzige Ursache für die Entstehung der PNAK sein können.

Neben der Impfung mit E. coli-Antigen wurde im Rahmen dieser Arbeit noch untersucht ob die alleinige Impfung von kompletten Freundschem Adjuvans einen Einfluß auf die PNAK Titer hat, mit der Überlegung, den antigenen Reiz einer bestehenden bakteriellen Besiedelung dadurch evtl. zu verstärken. Im Gegensatz zu BOSS (14), der bei Kaninchen, die in dieser Weise behandelt worden waren, nach der Impfung mit dem Adjuvans unspezifische Antikörper fand, brachten die eigenen Versuche in Übereinstimmung mit anderen Autoren (37) keinen Erfolg, d.h. zwischen geimpften und ungeimpften Tieren war kein Unterschied zu finden.

Zur Diskussion steht als Erklärung die Möglichkeit, daß eine Impfung mit Adjuvans zwar eine verstärkte spezifische Antikörperbildung gegen körpereigene Bakterien anregt, jedoch andererseits gleichzeitig dadurch eine Depression der xenogenen PNAK Titer bewirkt.

Ein, diese Hypothese möglicherweise bestätigendes und erstaunliches Ergebnis erbrachte ein größerer Versuch, bei dem ca. 200 Kaninchen mit 130 verschiedenen E. coli O-Stämmen geimpft wurden.

Bei mehr als 70% aller Kaninchen waren die untersuchten PNAK Titer nach der Immunisierung nicht angestiegen, bei 50% der Tiere sogar gefallen.

Nur relativ wenig Tiere besaßen nach der Impfung wesentlich höhere Titer. Während diese höheren Titer vielleicht mit einer Kreuzreaktion zwischen Bakterien und den im Test verwendeten Erythrozyten zu erklären sind, muß für die Überwiegende "Depression" der Titer eine andere Erklärung gesucht werden.

Wenn die PNAK Titer nach einer Immunisierung mit E. coli fallen, so ist die Schlußfolgerung, daß das Immunsystem die Bildung der PNAK zurückgestellt hat und zwar vielleicht zugunsten spezifischer, gegen die Bakterien gerichteter Antikörper.

Eine antigene Überladung (Dosis - Wirkungskurve) kann in Anbetracht der geringen Impfdosis ausgeschlossen werden!

Ebenfalls lassen sich die typischen Schwankungen der PNAK Titer der verschiedenen Hundegruppen (Kap. C 5.7.) in dieses Bild einordnen, d.h. mit einer möglichen bakteriellen Infektion zu bestimmten Zeiten erklären. So fielen oftmals hohe PNAK Titer fast gleichzeitig bei der ganzen Gruppe deutlich ab, um nach gewisser Zeit wieder ebenso gleichzeitig anzusteigen.

Auch unter den Ergebnissen der keimfreien Beagles fällt auf, daß vor allem die Titer gegen Pferd nach der Konventionalisierung stark zurückgehen, obwohl sie während der keimfreien Haltung stets eine fast gleichförmig steigende Tendenz zeigten.

Bei der Untersuchung von Kaninchen mit verschieden hohen PNAK Titern auf ihre Fähigkeit, spezifische Antikörper gegen E. coli zu bilden (Kap.C 5.5), d.h. der Prüfung ihrer Immunlage, gingen wir von folgenden Überlegungen aus:

Wenn die PNAK auf einen externen Stimulus hin gebildet werden, dann bedeuten Titerunterschiede der PNAK verschiedener Tiere gegen menschliche Lymphozyten (66), daß es Unterschiede in der Kreuzreaktion zwischen dem Antigen auf der Lymphozytenmembran und dem immunisierenden Material (Bakterien, Viren etc.) gibt. Der unterschiedliche PNAK Titer könnte dann Ausdruck verschiedener durchgemachter, evtl. inapparenter Infektionen und Krankheiten sein, die durch solche Mikroorganismen verursacht wurden.

Eine derartige Beziehung zwischen der Höhe der PNAK Titer und der Em-

pfänglichkeit für eine Krankheit konnte bei Mäusen gezeigt werden. So sind bestimmte Tierstämme bekannt, die PNAK gegen virale Leukämie Antigene besitzen und die möglicherweise aus diesem Grunde nur eine geringe Rate spontaner Leukämiefälle, verglichen mit anderen Mäusestämmen, aufweisen. Wenn dies zutrifft, könnte der PNAK Titer als Indikator für die jeweilige Immunlage des untersuchten Tieres genutzt werden - eine Überlegung die durch Untersuchungen dieser Arbeit leider nicht bestätigt werden konnte. Es zeigte sich sogar, daß mehrere Tiere, die niedrige PNAK Titer besaßen, zum Teil mehr spezifische Antikörper gegen E. coli bildeten als Tiere mit höherem PNAK Titer. Aber auch hierin war keine Regelmäßigkeit zu erkennen, womöglich nur deshalb, weil die in eigenen Versuchen verwendete Tierzahl zu klein war, um definitive Aussagen machen zu können (high response - low response!).

Die 3 gnotobiotischen Beaglesgruppen waren mit verschiedensten Bakterien kontaminiert worden, trotzdem entwickelten alle fast gleich hohe PNAK Titer. Wenn bei ihnen Bakterien für die Bildung der PNAK allein verantwortlich gemacht werden sollten, dann müßten alle Bakterien sowohl die Bildung der PNAK gegen die menschlichen Blutgruppen B und O, als auch gegen Pferd und Schwein in gleichem Maße stimulieren.

Die etwas höheren Titer der Gruppe K₁ (Kap. C 4.1.) gegen Pferd und Schwein könnten durch spezifisch stärker kreuzreagierende Bakterien induziert worden sein. Möglicherweise ist der höhere Titer aber dadurch bedingt, daß die Gruppe K₁ bereits in der 3. Woche mit Bakterien kontaminiert worden war, die Gruppe K₂ aber erst in der 8.-9. Woche.

2.3.4. Spezifität der PNAK

Während einige Autoren (86) den PNAK nur eine geringe Spezifität zubilligen, indem sie die Xenohämagglutinine als Mixtur spezifischer und unspezifischer Antikörper beschreiben, halten andere (49) die Antikörper für relativ spezifisch. Diese Autoren konnten durch Absorption der Seren mit Erythrozyten (49) nur die Xenohämagglutinine entfernen und nicht die Xenoleukagglutinine. Weiterhin absorbierten sie beispielsweise mit Hunde-Erythrozyten nur die Xenohämagglutinine gegen Hund und Fuchs im Serum jeder beliebigen Tierart. Allerdings fanden auch sie in geringer Menge Xenohäm-

agglutinine, die nach dieser Methode nicht spezifisch absorbiert werden konnten.

Die eigenen Untersuchungen über die PNAK Titer der beiden an Schweinenieren hämoperfundierte keimfreien Beagles zeigten, daß nur die PNAK gegen Schwein spezifisch zu absorbieren waren. Die PNAK gegen Mensch und Pferd blieben im Titer unverändert. Nach 1 Woche allerdings, waren dann nicht nur die Titer gegen Schwein wesentlich gestiegen, sondern auch die gegen Pferd. Die Vermutung liegt deshalb nahe, daß auch hierbei spezifische PNAK unspezifisch induziert wurden.

Beweise dafür, daß ein unspezifischer Stimulus die Produktion spezifischer Antikörper induzieren kann, zeigten auch Untersuchungen über Hormone wie Serotonin und Epinephrin, die die Gewebepерmeabilität für Lymphozyten variieren und die einen Einfluß darauf haben, ob der Körper immunologisch spezifisch oder unspezifisch antwortet. Wenn im Laufe des Lebens eine Exposition des Körpers gegenüber einem spezifischen Antigen mit einer zufälligen Vermehrung solcher Hormone zusammentrifft, können die Stammzellen dazu angeregt werden verschiedenste xenogene spezifische PNAK zu produzieren, die jedoch nicht spezifisch für das auslösende Immunogen sein müssen (82).

Zusammenfassend kann man sagen, daß Lebensalter, Fütterung, Infektionen und individuelle Immunlage die Bildung der PNAK beeinflussen. Die Höhe aller gebildeten Titer gegen Erythrozyten verschiedener Spezies und der Beginn der PNAK Eigenproduktion scheinen dabei von der individuellen Immunlage, die Höhe einzelner Hämagglutinations-Titer von der Kreuzreaktion, Antigenstärke und "Depressionswirkung" der Bakterien bzw. der Futterantigene abzuhängen. Die PNAK Titer während des gesamten Lebens scheinen daher im Gleichgewicht zwischen unspezifischer Immunantwort und apathogenem, konstantem Antigenreiz zu stehen.

3. Diskussion verschiedener Hypothesen

3.1. Physiologie der PNAK Bildung

3.1.1. Ort der Entstehung

Verschiedene Autoren beschreiben, daß PNAK produzierende Zellen vorwiegend in der Milz (62,53) und in den Peyerschen Plaques (92,95,121) zu finden sind.

COOPER et. al. (24) injizierten in die Peyer-Plaques von Ratten Schaf-Erythrozyten. Bereits 6 Stunden nach der Injektion entstanden dort sogenannte "early memory cells", wanderten in die Milz und zu anderen lymphatischen Geweben und bildeten hier IgM-Antikörper. Das Maximum der Antikörperproduktion war nach 48 Stunden erreicht. Etwa am 7. Tage waren die Antikörper wieder verschwunden. In der Folge konnte nach 14 Tagen ein zweiter Schub von "IgM memory cells", sog. "late memory cells" beobachtet werden.

Der Unterschied im Auftreten zwischen "early -" und "late memory cells" läßt vermuten, daß sie unabhängig voneinander in verschiedenen Geweben produziert werden. Es ist deshalb wahrscheinlich, daß geringe Mengen von antigenem Material in der Nahrung - das die Peyerschen Plaques erreicht - genügen um den Anstoß zu einer PNAK Bildung zu geben. Anschließend wird dann möglicherweise über sekretorische lokale IgA-Antikörper diese Pforte verschlossen oder über einen speziellen noch unbekannten Mechanismus eine Toleranz induziert. PORTER (95) vermutet, daß neben IgA auch IgM eine wichtige Rolle in der intestinalen Verteidigung spielt, denn beim Kalb kann in den Lymphzellen der Lamina propria eine zweimal so hohe Konzentration an IgM als an IgA nachgewiesen werden.

3.1.2. Weg des Antigens

Orale Zufuhr von Pferde-Ferritin (25) führt bei keimfreien Mäusen zur Bildung von Antikörpern der IgA-Klasse. Dabei fällt ein Abfall der Menge der Antikörper mit der Entfernung vom Ort des Antigenkontaktes auf. Besonders viele Antikörper entstehen in der Mukosa der Darmwand. Immunisier-

te man die Tiere dagegen subkutan oder intraperitoneal, fand man spezifische Antikörper vor allem in Lymphknoten und Milz aber nur noch in geringer Zahl auch in der lamina propria des Darms. Die dabei nach einmaliger parenteraler Immunisierung entstehenden Antikörper gehören vorwiegend der IgM-Klasse, diejenigen, die nach mehrmaliger Injektion entstehen, vorwiegend der IgG-Klasse an!

In diesem Zusammenhang ist es interessant zu bemerken, daß bei Ferkeln(92), die ohne Kolostralmilch aufgezogen wurden, die Antikörper Synthese mit einem 19s-Gammaglobulin beginnt, das im Antigen-Charakter aber nicht mit IgM identisch ist, sondern zur 7s-IgG-Klasse gehört.

Auch PORTER glaubt, daß der Weg den das Antigen nimmt, ausschlaggebend für die Art der gebildeten Gammaglobuline ist (92). So zeigen Arbeiten am Huhn, daß die orale Gabe von *S. gallinarum* vorwiegend IgG-Antikörper induziert, die intramuskuläre Impfung dagegen vorwiegend IgM-Antikörper (92).

3.1.3. Beteiligte Immunzellen

Als Produktionsstätte bzw. Induktoren der IgG-, IgA- und IgE-Globulinbildung werden die sog. T-Zellen - Thymus abhängige Zellen - beschrieben. Diese T-Zellen haben im Elektronenmikroskop eine fast glatte Oberfläche mit wenigen Mikrovilli, von denen man annimmt, daß sie die Rezeptoren der Antigenerkennung sind. Diese Rezeptoren sind spezifisch und erkennen nur ein einziges Antigen. Sie werden deshalb als "Preformed Recognition Chain" bezeichnet. Hat ein Kontakt mit Antigen stattgefunden, wird die Produktion der Rezeptoren erhöht und anschließend diese Rezeptoren, also spezifische Antikörper vom IgG-, IgA- und IgE-Typ sezerniert.

Untersuchungen über die Art der beteiligten Immunzellen an thymektomierten und bestrahlten Mäusen zeigten, daß die PNAK vom Thymus unabhängig gebildet werden (53) und auch keine Beziehung zu den "Precursor Zellen" besitzen. Diese sog. "helper cells" ("adherent and thymus derived cells") sind für die Bildung der PNAK also nicht notwendig (108).

DRAPER et.al. (32) untersuchten Kaninchen auf natürliche Hämolysintiter (PNAK) gegen Schaf-Erythrozyten, die splenektomiert, ganzkörperbestrahlt oder beides zusammen waren. Während die Bestrahlung bis zum 12. Tage zu einer Abnahme der PNAK Titer führte, hatte die Splenektomierung keinen signifikanten Einfluß. 3-4 Wochen nach der Bestrahlung waren bereits die ursprünglichen Titer wieder erreicht und stiegen als Zeichen der typischen Überproduktion sensitiver B-Zellen (siehe unten), die bei der Bestrahlung nur verwundet worden waren, in den folgenden Tagen auf ein mehrfaches der ursprünglichen Werte an. Eine Bestrahlung während der Erholungsphase veranlaßte eine Wiederholung der Antikörperabnahme, meist aber nur mit einem Aufschub von 3-4 Tagen.

Ein Teil der für die PNAK Bildung kompetenten Zellen ist demnach strahlenempfindlich - vermutlich die Zellen, die momentan sensibilisiert wurden, während "in Ruhe befindliche Zellen" nicht so angriffsfähig sind.

Als Immunzellen, die für die Entstehung von IgM - und damit dem größten Teil der PNAK - zuständig sind, werden die sog. B-Zellen beschrieben. Sie sind hundertmal häufiger als T-Zellen und sehen im Elektronenmikroskop wie Seerosen aus. Sie haben eine sehr große Zahl von Rezeptoren die mit Antigenen Verbindung aufnehmen und anschließend in großer Menge auch als humorale Antikörper sezerniert werden können. Die dabei entstehenden Antikörper der B-Zellen sind von geringer Affinität, während die Antikörper der T-Zellen zum hochaffinen Typ zählen.

Es scheint, daß aber auch die B-Zellen hochaffine Antikörper produzieren können, dann nämlich, wenn das Antigen oder aber auch Antigen-Antikörperkomplexe der T-Zellen vorher von Makrophagen aufgenommen und erst anschließend an die B-Zellen wieder abgegeben wurden. Bei der Zwischenschaltung der Makrophagen wird das Antigen irgendwie so verarbeitet, daß es als "Superantigen" wirkt.

3.1.4. Dauer des Antigeneinflusses

Da der PNAK Titer zwar fluktuiert, aber trotzdem relativ beständig ist, glauben einige Autoren (32), daß die PNAK das Ergebnis von Überlappenden, relativ kurzen Antworten verschiedener Immunzellen sind. Sie glauben

nicht, daß die PNAK als Produkte einer uniformen Zellpopulation anzusehen sind und daß z.B. Hämolyse (32) auch bei Abwesenheit eines Antigens gebildet werden könnten.

So wurde gezeigt (128), daß wiederholte Injektionen kleiner Antigenmengen die Bildung von IgM-Antikörpern als frühe, relativ unspezifische Primärantwort induzierten, ohne daß sich eine immunologische "Erinnerung" ausgebildet hatte. Wie bereits im Zusammenhang mit den Ergebnissen einer anderen Arbeit diskutiert, scheint für die Produktion der PNAK vom IgM-Typ daher das längere Verweilen des Antigens bzw. dauernde Antigenschübe notwendig zu sein.

3.1.5. Molekulares Geschehen

Über die biochemischen Vorgänge bei der Antikörperproduktion und damit auch der PNAK Entstehung gibt es sehr viele Hypothesen, jedoch hat die sog. "Clonal Selektion" Theorie besondere Bedeutung gewonnen. Sie besagt, daß das Antigen spezifische Zellen selektiert und daß jede dieser immunologisch kompetenten Zellen zur Antwort auf nur eine Determinante festgelegt wird.

Die Arbeiten von ATTARDI et.al. (7) und NOSSAL (87) zeigten, daß die größte Menge aller Immunzellen - die von Tieren gewonnen wurden, die mit mehreren Antigenen geimpft worden waren - nur Antikörper gegen ein einziges Antigen produzierten.

Diese Untersuchungen deuten zwar darauf hin, beweisen aber nicht, daß eine Immunzelle nur zu einer einzigen Antwort auf eine besondere Determinante befähigt ist (60). Wäre jeder einzelne Lymphozyt nur auf eine Determinante festgelegt, wäre zu erwarten, daß der Teil der antwortenden Zellen sehr klein wäre. Jedoch wurde in zahlreichen Beispielen eine überraschend große Menge von reagierenden Zellen (bis zu 50%) gefunden.

Wenn man annimmt, daß jede spezifische Immunantwort unter genetischer Kontrolle steht, ohne Rücksicht darauf, ob immunkompetente Zellen eine oder mehrere Arten von Antikörpern bilden, bleibt doch die Frage, wie die außerordentlich große Zahl der dazu erforderlichen Gene entstanden sein sollte.

Sicher nachgewiesen ist bisher, daß zumindest die Bildung der verschiedenen Globulinklassen durch wenigstens 2 Gene kontrolliert wird (60). So wurde in neuerer Zeit bei der Immunantwort der beiden reinen Mäuse-Inzuchtstämme CBA und C₅₇ black auf dasselbe Antigen ein zehnfacher Unterschied gefunden. Als Antigen war ein verzweigtkettiges synthetisches Polypeptid verwendet worden, das aus Tyrosin, DL-Alanin und Lysin bestand. Die Tiere, die stark reagierten, nannte man "high-responser", die Tiere die schwach reagierten, "low-responser". Bei der starken Reaktion wurde nur IgG und IgE und kein IgM produziert.

Aus diesen Studien geht hervor, daß die Bildung von IgG, IgE und IgA bei der Maus an einen bestimmten Locus gebunden ist und daß die Bildung von IgM, also der Klasse, der vor allem die PNAK zuzurechnen sind, als Antikörper vom schnellen, aber nicht hochaffinen Typ auf einem anderen Gen liegt.

Eine weitere Möglichkeit wäre, daß zwar getrennte Gene die variable Synthese aller möglichen L- und H-Ketten mit ihren verschiedenen Anteilen kontrollieren, daß aber die große Mannigfaltigkeit der Immunglobuline auf Grund einer somatischen Mutation entsteht, die in den Lymphozyten oder ihren Vorläufern während der Lebenszeit des Individuums auftritt, ähnlich dem bei Viren als "Suppressor Mutation" bekannten Phänomen.

Um die sehr hohe Mutationsrate zu erklären, wurde die Hypothese aufgestellt, daß es ein "Scrambler Gen" (Generator der Mannigfaltigkeit (60)) geben müsse, welches das häufige "crossing over" in jedem Teil des Zystrons bewirke und so die Synthese der variablen Anteile kontrolliere.

Die Aminosäuresequenzen der Gammaglobuline weisen bei den verschiedensten, auch weit entfernten Lebewesen wie Mensch, Maus und Pferd ein bemerkenswertes Maß von Ähnlichkeit auf. Dies deutet auf eine große Stabilität der Gammaglobuline für die Gesamtstruktur während der Evolution hin.

Die Tatsache, daß die PNAK eine so große Spezifität innerhalb der zoologischen Unterordnungen aufweisen, mag hierin seine Erklärung finden.

Einige Autoren (48,49) schließen ein "Fossilverhalten" nicht aus, d.h. sie glauben, daß die PNAK Spezifität genetisch verankert ist und sich auf frühere Gegebenheiten bezieht, die heute nicht mehr existent sind.

NOSSAL (87) meint, daß die Klone gegen körpereigenes Protein tolerant sein

müssen, ein Phänomen, das heute immer mehr als ein aktiver Prozess betrachtet wird. Ändert sich die Antigenstruktur im Laufe der Evolution, so wird diese Information, die der Aufrechterhaltung der Toleranz diene, frei und der Klonus kann Antikörper produzieren. Nimmt man an, daß diese Antikörper permanent auch ohne Antigenreiz entstehen, dann könnte dies auf eine Art von "Grundumsatz" der immunkompetenten Zellen zurückgeführt werden, der nötig ist, um bestimmte Proteine, respektive Globuline oder "nonsense globulins" zu erzeugen, die für die Lebensfähigkeit des Organismus Voraussetzung sind.

Andererseits könnte es sich um einen Entkoppelungsmechanismus handeln, eine Art "feed back", der in Gang kommt, nachdem die Aktivleistung zur Aufrechterhaltung einer Toleranz, die auf einen dauernden Antigenreiz angewiesen war, entfällt. Je mehr derartige fossile Antigene eines Tieres sich von denen des anderen Individuums unterscheiden, desto höher müßten die gemessenen Antikörper Titer sein. Je mehr Antigen determinanten eine Tierart mit der anderen teilt, umso niedriger wären die Antikörper Titer. Tierarten, die in der Evolution vor dem Entstehen eines spezifischen neuen Antigens sich aus der Entwicklungsreihe abgespalten haben, dürften keine Antigengemeinschaft damit und keine PNAK dagegen aufweisen.

Es bleibt die Frage, ob PNAK und spezifisch provozierte Antikörper, die gegen das gleiche Antigen gerichtet sind, auch vom selben Klonus gebildet werden! Die Spezifität der präformierten Antikörper ließe diese vermuten, auch wenn provozierte und präformierte natürliche Antikörper nicht der gleichen Immunglobulinklasse angehören.

3.2. Biologische Bedeutung der PNAK

Für eine lange Zeit wurden die PNAK mehr als Kuriosität denn als ein wichtiges Problem der Immunologie angesehen, doch in den vergangenen Jahren wurde es offensichtlich, daß den natürlichen Antikörpern mehrere wichtige Funktionen zuzuschreiben sind

- die Verteidigung gegen Bakterien und Viren (82,83,95)
- die Beteiligung an der Abstoßung von Allo- und Xenotransplantaten und

- die Erkennung einer fremden Substanz, damit diese wie ein Antigen behandelt wird (82).

Die möglicherweise primäre Bedeutung der PNAK wird im dritten Punkt angesprochen. Die beiden erstgenannten Thesen sind dagegen von sekundärer Bedeutung. Bei der zweiten These ist es offensichtlich, bei der ersten wird es klar, wenn man bedenkt, daß die bei allen Tieren in nur sehr geringer Menge vorhandenen PNAK ausreichen sollten, um die Kolonisierung von Bakterien zu verhindern. Weiterhin treten die PNAK bei Hunden erst nach einigen Wochen auf, zu einem Zeitpunkt, da Streptokokken, Lactobakterien und andere Mikroorganismen in der Regel bereits hohe Populationsdichten erreicht haben können.

Bei der Untersuchung von keimfreien Mäusen, die mit natürlich vorkommenden Darmbakterien immunisiert worden waren, zeigte sich, daß die Tiere gegen diese Bakterien wesentlich weniger Antikörper gebildet hatten, als wenn sie mit pathogenen Bakterien geimpft worden wären. Die Zahl der immunkompetenten Zellen aber war im Vergleich dazu übermäßig stark und in keinem Verhältnis zu der produzierten Antikörpermenge gestiegen (12)!

Dies legt die Vermutung nahe, daß der bei keimfreien Tieren noch unreife "immunologische Apparat" auf den Kontakt mit Antigen angewiesen ist. Die folgende starke Zellvermehrung geht dann aber bei Kontakt mit apathogenen evtl. für das jeweilige Tier sogar lebensnotwendigen Bakterien oder körpernahen Antigen (viele der untersuchten Darmbakterien besitzen Strukturen, die mit Blutgruppenantigenen verwandt sind und einige enthalten sogar Proteine, die mit der Mucosa des Darmes kreuzreagieren (12).) nicht mit einer entsprechend hohen Antikörperproduktion einher.

Die wenigen Antikörper (PNAK), die dennoch produziert werden, sind möglicherweise nur der Ausdruck dieser unterschwelligen Abwehr, die sofort aufflackert, wenn sich der apathogene Charakter der Bakterienflora in einen pathogenen Charakter verwandeln sollte.

Wenn man dies weiß, darf man die Bildung der PNAK nicht nur einfach als Mechanismus für die Verhinderung einer Infektion oder Abstoßung von Fremdgewebe sehen, sondern als Ausdruck einer selektiven Kraft in der Evolution, die sowohl für eine besondere Beziehung zwischen dem Tier und seiner für ihn passenden Darmflora sorgt, als auch der Wahrung der eigenen Antigenidentität dient.

3.3. Mögliche Verlängerung der Überlebenszeiten von Organtransplantaten durch Depression der PNAK Titer

Keimfreie Ratten stoßen Hautallotransplantate gleich stark oder stärker ab als konventionelle Tiere (31). Verstärkte Immunantwort wurde ebenfalls gegen H und O Antigen von E. coli und gegen Schaf-Erythrozyten gemessen. MAC DONALD (31) glaubt, daß bei keimfreien Tieren ein größerer Teil des immunologischen Systems auf die antigene Herausforderung antwortet als bei Konventionellen.

Diese Beobachtungen erscheinen paradox und lassen vermuten, daß das Immunsystem der keimfreien Tiere reaktionsfähiger ist als das konventioneller Tiere (siehe auch Kap.D 2.3.1.). Möglich wäre auch, daß die Immunzellen noch nicht geprägt und damit zahlenmäßig besser einflußbar sind.

Im Gegensatz dazu stehen Versuche an keimfreien und konventionellen Mäusen, bei denen die Überlebenszeit von Hautallo- und Xenotransplantaten untersucht wurden. Bei diesen Mäusen wurde kein Unterschied sowohl bei "first" als auch "second graft reaction" gefunden (109). In diesem Falle hatte offensichtlich weder das Fehlen der Mikroorganismen noch die Verringerung des lymphatischen Gewebes einen Einfluß auf die Transplantation.

Andere Faktoren, die für unspezifische Immunreaktionen verantwortlich sind, wie Opsonin (125), das sich an Bakterien und andere Partikel heftet und so deren Phagozytose durch weiße Blutkörperchen potenziert, sind ebenfalls bei keimfreien Ratten aktiver als bei konventionellen.

Bedenkt man noch, daß keimfreie Säugetiere -wie in dieser Arbeit nachgewiesen wurde- auch xenogene PNAK Titer zwar verzögert, aber in gleicher Stärke wie konventionelle Tiere ausbilden, dann wird offenkundig, daß dem keimfreien Tier in Xenotransplantationen auf Grund der nicht veränderten humoralen wie auch zellulären Abwehr (im Vergleich zum bakteriell besiedelten Tier), kaum eine so große Bedeutung zukommen dürfte, wie bisher angenommen wird! Inbesondere wird die HXAR nicht verzögert sein. Im Gegenteil scheint es, als ob keimfreie Tiere sogar verstärkt transplantiertes Gewebe abstoßen können.

Die keimfreie Haltung primär konventioneller Tiere nach einer Transplantation ist dagegen sicher von Vorteil, denn abgesehen von Infektionen könn-

ten während der anschließend notwendigen Immunsuppression mit dem Transplantat kreuzreagierende Bakterien die Immunantwort fehlleiten und damit eine besonders starke Abstoßung induzieren.

Welche Möglichkeit besteht aber nun den PNAK Titer zu senken und damit diese hyperakute Abstoßungsreaktion (HXAR) zu verlängern?

Es wird beschrieben (138), daß keimfreie Mäuse besonders viele hämagglutinierende Antikörper gegen Schaf-Erythrozyten dann bilden, wenn sie vollsynthetisch gefüttert werden.

Andere Autoren (101), immunisierten konventionelle Karpfen in verschiedener Reihenfolge mit Rinderglobulin und menschlichem Globulin. Jeweils gegen das Antigen, welches zuerst verimpft worden war, bildeten sich besonders hohe Titer, während die Titer gegen das zeitlich später geimpfte Antigen stets deutlich niedriger lagen.

Eine dazu passende Theorie vertreten ADLER et.al. (1), die das Problem des "antigenen Wettbewerbs" genauer untersuchten. Sie zeigten am Meerschweinchen, daß wiederholte Injektionen großer Mengen von Rinderalbumin nicht nur die Fähigkeit dieser Tiere zur Bildung humoraler oder zellständiger Antikörper vom Hautreaktionstyp herabsetzt, sondern auch zu einem Zustand der Nichtbeantwortung dieser Antigenreize führt.

Weiterhin untersuchten sie den Wettbewerb zwischen gleichzeitiger Gabe von Rinderglobulin in aufsteigenden und Rinderferritin in gleichbleibenden Dosen (2 ugN):

Rinderglobulin		Antiferritin Titer (100×2^n)	
		4.Woche	10.Woche
0,000	ugN	5,8 $\pm$ 0,48	10,0 $\pm$ 0,60
0,048	"	6,2 $\pm$ 0,42	9,9 $\pm$ 0,58
0,240	"	4,0 $\pm$ 0,64	5,5 $\pm$ 0,86
1,200	"	2,5 $\pm$ 0,44	3,5

Je mehr Rinderglobulin gleichzeitig mitgeimpft wurde, desto stärker fiel der Titer gegen Ferritin. ADLER spricht von einem "Vorkaufsrecht" des synthetisierenden Apparates der Zelle oder einem Ausschlußmechanismus, der vielleicht auf Permeabilitätsfaktoren beruht.

Dieser "antigene Wettbewerb" kann bereits durch kleinste Antigenmengen her-

vorggerufen werden und scheint von langer Dauer zu sein. Es ist außerdem so, daß eine Injektion des wettbewerbenden Antigens einige Tage oder sogar Wochen vor der Gabe der Test-Antigene noch effektiver ist als die gleichzeitige Immunisierung.

Damit in Einklang zu bringen ist auch das Ergebnis des (im Rahmen dieser Arbeit vorgenommenen) Immunisierungsversuches mit vielen verschiedenen E.coli-Serotypen, das zeigte, daß konventionelle Kaninchen bei Immunisierung mit E. coli sehr hohe Antikörper gegen den geimpften Bakterienstamm bilden, während die PNAK Titer fallen.

Eine mögliche Erklärung könnte sein, daß die Bildung der PNAK vielleicht nur als "Grundumsatz" zu sehen ist, ähnlich wie sich Bakterien immer wieder durch Teilung regenerieren müssen. Ist dies der Fall, dann wäre es möglich, daß plötzliche starke Antigenschübe sehr viel freie kompetente Immunzellen finden oder es könnte bedeuten, daß weniger Lymphozyten für die Bildung der PNAK zur Verfügung stehen, weil ältere Lymphozyten abgebaut und Neugebildete für die spezifische Antikörper-Synthese gegen das massiv geimpfte Antigen benötigt werden.

Wie könnte man nun eine künstliche Erniedrigung der PNAK Titer bewirken?

In Anlehnung an die oben beschriebenen Ergebnisse wäre es interessant, nach einem Bakterienstamm oder anderen Antigen zu suchen, das wie auch immer, in geeigneter Weise eine Depression der PNAK Titer induziert. Dadurch könnte vielleicht die HXAR bzw. frühzeitige Transplantatabstoßung abgeschwächt oder vermieden werden.

Bei Untersuchungen VAN BEKKUMS über den Einfluß von Bakterien auf Transplantationen wurde bereits ein Stamm entdeckt, der die Abstoßung von Fremdgewebe signifikant verzögerte. Der Mechanismus, der für diese Reaktion verantwortlich zu machen ist, konnte jedoch noch nicht erforscht werden (9).

Es wäre möglich, daß dieser von VAN BEKKUM beschriebene, noch unbekannte Mechanismus seine Erklärung in der - in dieser Arbeit beschriebenen - PNAK "Titerdepression" findet.

Eine andere vielleicht erfolgversprechendere, jedoch am Menschen nicht anwendbare Methode wäre die Kombination einer keimfreien Aufzucht mit gleichzeitiger Monokontamination von entsprechendem PNAK Titer deprimierenden Antigenen.

Das Immunsystem dieser Tiere würde möglicherweise -zumindest für einen kürzeren, evtl. auch längeren Zeitraum- noch stärker als das konventioneller Tiere gegen das geimpfte Antigen reagieren und dabei die Produktion der PNAK so vernachlässigen bzw. unterdrücken, daß bei einer Xenotransplantation die HXAR nicht mehr zum Tragen kommt.

E. Z U S A M M E N F A S S U N G

Entwicklung, Immunglobulinklasse, Auslösemechanismus und Beeinflußbarkeit xenogener, insbesondere hämagglutinierender, präformierter natürlicher Antikörper (PNAK) wurden beim Mensch und bei verschiedenen höheren Säugetieren (Pferd, Rind, Schwein, Hund, Kaninchen, Ratte) untersucht:

- Die PNAK erwachsener Spezies sind vorwiegend der IgM-Globulinklasse zuzurechnen. Ein geringer Resttiter, die PNAK in der Muttermilch und die PNAK im Serum Neugeborener zählen dagegen nicht zu dieser Klasse.
- Die PNAK werden in Abhängigkeit von der Plazentar- bzw. Intestinalbarriere diaplazentar bzw. transmamillar auf den Feten in verschiedenen Mengen übertragen.
- Unabhängig davon, ob PNAK dem neugeborenen Individuum bereits von der Mutter mitgegeben werden oder nicht, setzt etwa um die 4. bis 6. Lebenswoche allmählich die Eigenproduktion der PNAK ein.
Aus der Höhe der jeweiligen PNAK Titer kann grob das Alter junger Tiere bestimmt werden.

- Der Zeitpunkt des Starts ist in etwa identisch mit dem Absetzen der Muttermilch und dem Beginn der Festfutteraufnahme.
- Hunde, die ohne jede andere Kost nur mit definiertem Fleisch gefüttert werden, produzieren unabhängig von der verfütterten Fleischart die PNAK in gleicher Menge auch gegen andere Fleischarten bzw. Antigene.

Ratten verschiedener Altersstufen, die entgegen der üblichen Ernährung (Körnerfutter) nur Fleisch oder synthetisches Futter bekommen, zeigen gegenüber normal ernährten Tieren keine Veränderung der PNAK Titer.

- Die Entwicklung der PNAK gegen menschliche Erythrozyten der Blutgruppe B und O setzt bei keimfreien und keimarmen Beagles (n=19) verzögert ein. Die Titer konventioneller Tiere werden einige Wochen später erreicht. Die PNAK Titer gegen andere Antigene (z.B. gegen Pferde- oder Schweineerythrozyten) zeigen dagegen keine Abhängigkeit von der bakteriellen Besiedelung.

Auch bei anderen "keimfreien" Säugetieren (Schwein, Kaninchen u.a.) kann eine verzögerte Bildung der PNAK festgestellt werden.

- Die Behandlung konventioneller Kaninchen mit abgetöteten E. coli O 86 läßt sowohl einen Einfluß des geimpften Antigens auf die Bildung der PNAK gegen die menschlichen Blutgruppen B und O als auch eine Abhängigkeit der PNAK Produktion vom Alter der Tiere erkennen. (Während sehr junge Kaninchen auf die Immunisierung mit einer Erhöhung der PNAK Titer reagierten, veränderten sich die Titer älterer Tiere nicht. Die Entwicklung der gegen tierische Erythrozyten gerichteten PNAK blieb wiederum unbeeinflußt.)
- Unter der Immunisierung von Kaninchen mit verschiedensten Serotypen von E. coli (n = ca. 150) fallen bei der Mehrzahl der Tiere die PNAK Titer - zum Teil sehr eindrucksvoll - ab ("PNAK-Titerdepression"). Nur bei wenigen Tieren steigen sie deutlich an.
Je nach verimpften Bakterienantigen können davon entweder alle oder nur einzelne spezielle PNAK Titer betroffen sein.

Auf Grund der Ergebnisse über Entwicklung und Futtereinfluß wird diskutiert, ob für die Stimulierung spezifischer PNAK unspezifische im Futter enthaltene Antigene verantwortlich gemacht werden können!

Aus den Untersuchungsergebnissen gnotobiotischer Tiere wird die Überlegung abgeleitet, daß dem primär keimfreien Tier in der Xenotransplantation kaum eine so große Bedeutung zukommen dürfte, wie bisher angenommen wird!

Als wesentliches Resultat der Versuche mit keimarmen und auch geimpften Tieren wird diskutiert, ob die Besiedelung der Tiere mit kreuzreagierenden Bakterien eine Steigerung der PNAK Produktion bewirkt, die Besiedelung mit anderen Bakterien dagegen keinen Einfluß hat oder sogar zu einer "PNAK-Titerdepression" führt!

Es werden die genetischen Mechanismen erörtert, insbesondere die Überlegung, ob die PNAK als eine Art von "Grundumsatz" der Immunzellen zu betrachten sind und evtl. ein "Fossilverhalten" zeigen.

Weiterhin wird die Möglichkeit besprochen, durch Ausnutzung des Phänomens der "PNAK-Titerdepression" die hyperakute Abstoßungsreaktion von Xenotransplantaten bei Versuchstieren und evtl. auch bei Menschen abschwächen oder sogar verhindern zu können!

9. BEKKUM, VAN, D. Symposium on applied Immunology,
Mündliche Mitteilung, Kitzbühel, Jan. 1973
10. BENTZ, M. Technik der M-Globulin Bestimmung im
Blutserum.
Rev. franc. Etudes Clin. et Biol. 9, 657
(1964)
11. BELLANTI, J.A., The development of the immune response.
EITZMANN v., D., J. exp. Med. 479 (1962)
ROBBINS, J.B., and
SMITH, R.T.
12. BERG, R.D., and Immunological responses and microorganismus
SAVAGE, D.C. indigenous to the gastrointestinal tract.
Am. J. of Clin. Nutrition 25, 12,
1364-1371 (1972)
13. BANATVALA, J.M., and Serum IgM and IgG responses in postnatally
WATSON, D. acquired rubella.
Lancet, 65 (1969)
14. BOSS, J.H., Patterns of naturally occurring circulating
SILBER, E., and antibodies to rat tissue antigens in the
NELKEN, D. rat.
Path. et Microbiol. 31, 1 (1968)
15. BOURNE, F.J., and The transfer of immunoglobulins IgG and
CURTIS, J. IgA and IgM from serum to colostrum and
milk in the sow.
J. of Immunol. 24, 1 (1973)

22. CHATTERAJ, A.,
GILBERT, R., and
JOSEPHSON, A.M. Serological demonstration of fetal pro-
duction of blood group isoantibodies.
Vox-Sang. 14, 289 (1968)
23. COHEN, N. Amphibian Transplantation Reactions
A Review.
Am. Zoologist. 11, 2 (1971)
24. COOPER, G.N., and
TURNER, K. Development of IgM memory in rats after
antigenic stimulation of peyer's patches.
J. of Reticuloendothelial Soc. 6, 5-6
(1969)
25. CREBBE, P.A.,
NASH, D.R.,
BAZIN, H.,
EYSEN, H., and
HEREMANS, J.F. Antibodies of the IgA type in intestinal
plasma cells of germfree mice after oral
or parenteral immunization with ferritin.
J. exp. Med. (1969)
26. CURTAIN, C.C.,
FUDENBERG, H.H. Evolution of the immunoglobulin antigens
in the ruminantia.
Biochem. Gen. 8, 3 (1973)
27. CURTIS, J., and
BOURNE, F.J. Half-lives of immunoglobulins IgG, IgA
and IgM in the Serum of new-born pigs.
J. of Immunol. 24, 1 (1973)
28. CURTIS, J., and
BOURNE, F.J. Immunoglobulin quantitation in sow serum,
colostrum and milk and the serum of young
pigs.
Biochem. Biophys. Acta, 236, 319-332 (1971)
29. DAHR, P., und
LINDAU, H. Über die Ausscheidung von Blutgruppen-
substanzen bei einigen Säugetieren unter
besonderer Berücksichtigung der Teilanti-
gene von B.
Zeitschr. für Immunitätsforsch. 91,
470-484 (1937)

37. FINGER, H.,
STEIN, P.,
BENEKE, G.,
EMMERLIN, P., und
PLAGER, L. Einfluß von Bordetella pertussis auf das
lymphatische Gewebe von Mäusen.
Med. Microbiol. Immunol. 157, 265-290 (1972)
38. FLAX, M.H., and
WAKSMAN, B.H. Delayed cutaneous reaction in the rat.
J. of Immunol. 89, 496 (1962)
39. FLEISCHMANN, J.B.,
PAIN, R.M., and
PORTER, R.R. Reduction of gammaglobulin
Arch. Bioch. Biophys. 1, 175 (1962)
40. FLOERSHEIM, G.L. Transplantationsbiologie.
Heidelberger Taschenbücher Bd. 89
Springer Verlag Heidelberg (1971)
41. FRANZL, R.E., and
MC MASTER, P.D. Effect of bacterial lipopolysaccharides
on hemolysin production in mice.
Fed. Proc. 20, 26 (1961)
42. FRIEDENREICH, V., und
WITH, S. Über B-Antigen und B-Antikörper bei
Menschen und Tieren.
Zeitschr. für Immunitätsforsch. 78,
152-172 (1933)
43. FUBARA, E.S., and
FRETER, R. Availability of locally synthesized
and systemic antibodies in the intestine.
Infection and Immunity 6, 965-981 (1972)
44. GITLIN, D., and
BIASUCCI, A. Development of G, A, M, C/ A, C'1
esterase inhibitor, transferrin, coeruleo-
plasmin, hemopexin, haptoglobin, fibrinogen,
plasminogen, -antitrypsin, orosomucoid,
-lipoprotein, -macroglobulin, and
præalbumin in the human conceptus.
J. clin. Invest. 48, 1433 (1969)

45. GÖTZ, H., und
COENEN, W. Die Serumproteine des Tieres.
Biochemische und immunologische Charakterisierung der Serumproteine des Schweines.
Zbl. Vet. Med. 16, 631-640 (1969)
46. HADDAD, Z.H., and
KOROTZER, J.L. Immediate hypersensitivity reactions to food antigens.
J. of Allergy and clin. Immunol. 49, 210-218 (1972)
47. HAFTER, E. Nahrungsmittelallergien.
Med. Welt 22, 964-966 (1971)
48. HAMMER, C. Beeinflußung der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion ex-vivo perfundierter Schweine- und Schafnieren bei Hunden durch aktiv und passiv erzeugtes Enhancement.
Diss. Univ. München (1972)
49. HAMMER, C.,
CHAUSSEY, CH., and
BRENDDEL, W. Preformed natural antibodies in animals and man.
Europ. Surg. Res. 5, 162-166 (1973)
50. HAMMER, C.,
MERZEL, D.,
PIELSTICKER, K.,
LAND, W., und
BRENDDEL, W. In-vivo Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der hyperakuten xenogenen Abstoßungsreaktion von Nierentransplantaten im Schwein-Hund System.
2. Tagg. der Ges. für Immunol.,
Wien 1970
51. HARDY, R.N. The break-down of (¹³¹) γ -globulin in the digestive tract of the new-born pig.
J. Physiol. 205, 435-451 (1969)

52. HARRIS, G.,
PELC, S.R., and
BLACKMORE, D.K. Synthesis of DNA by the spleens of
germ-free mice during the primary
response to sheep red cells.
J. of Immunol. 3, 2 (1973)
53. HEGE, J.S., and
COLE, L.J. Antibody plaque-forming cells in
unsensitized mice.
J. of Immunol. 99, 1 (1967)
54. HEMMINGS, W.A. Transport of IgM-Antibody to the
Rabbit Foetus.
J. of Immunol. 25, 165 (1973)
55. HENEGHAN, J.B.,
FLOYD, C., and
COHN, jr., J. Gnotobiotic dogs for surgical research
J. of Surgical Res. 6, 1 (1966)
56. HEREMANS, J. Die Immunglobuline des Serums.
Ed. Arscia S.A. Brüssel, Masson et Cie.
Paris 1960
57. HIRVONEN,
ROSSI, T., and
TOIVANEN, P. Cord IgG and duration of labour.
Lancet 1, 315 (1969)
58. HOLMGREN, J.,
HANSON, L.A.,
HOLM, S.E., and
KAUSER, B. An Antigenic Relationship between
Kidney and Certain Escherichia coli Strains.
Int. Arch. Allergy 41, 463-474 (1971)
59. HOROWITZ, R.E. Cellular and humoral defense mechanismus
in germfree animals.
IX. Internat. Congr. Microbiol. Moscow 1966

60. HUMPHREY, J.H., and
WHITE, R.G. Lehrbuch der Immunologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1971
61. ISSIT, P.D. Antibody mediated red cell destruction
following the transfusion of incompatible
blood: a review.
Med. Laboratory Technology 30,
95-103 (1973)
62. JAROSZEWSKI, J., and
WISNIEWSKI, G. Synthesis versus release of preformed
antibody in the process of plaque
formation by immune spleen vells.
Z. Immun.-Forsch. 142, 122-128 (1971)
63. JENSEN, K.B. Immunochemical determination of serum
concentrations of albumin, IgG and IgM.
Protides biol. Fluids 14, 677 (1967)
64. JOHANSSON, S.G.O.,
HÖGMAN, C.F., and
KILLANDER, J. Quantitative immunoglobulin determination.
Acta path. microbiol. scand. 74,
519 (1968)
65. BENFER KALTREIDER, H.,
JOHNSON, J.S. Porcine immunoglobulins.
II. Antibody response of adult swine to
bovine Globulin.
J. of Immunol. 109, 5 (1972)
66. KAMAL, K.,
MITTAL, S.F.,
MICHELE, A.P.,
REISFELD, R.A., and
TERASAKI, P.J. Serological Characterization of natural
antihuman lymphozytotoxic antibodies
in mammalian sera.
Transplantation, 16, 4 (1973)

67. KIUCHI, Y.,
MAEJIMA, K.,
FUJIWARA, K., and
TAJIMA, Y. Serum IgG in germfree gnotobiotic and
conventional mice of different ages.
Japan. J. Exp. Med. 42, 53-55 (1972)
68. KIUCHI, Y.,
YAMANAKA, H.,
MAGARIBUCHI, T., and
FUJIWARA, K. Persistence of maternal antibody and it's
effect on the antibody production in
young mice.
Jap. J. of Exp. Med. 42, 553-561
(1972)
69. KRÜGER, G., and
STOLPMANN, H.J. Postnatal development of lymph-nodes in
mice after prenatal antigenic stimulation.
Z. Immun.-Forsch. 142, 115-121 (1971)
70. LANDY, M.,
SANDERSON, R.P., and
JACKSON, A.L. Humoral and cellular aspects of the
Immune response to the somatic antigen
of salmonella enteritidis.
J. exp. Med. 122, 483 (1965)
71. LANDY, M., and
WEIDANZ, W.P. Natural antibodies against gramnegative
bacteria. Bacterial endotoxins,
275-290, New Brunswick, N.J.
Rutgers University Press 1964
72. LEMMEL, E.M.,
COOPER, M.D., and
GOOD, R.A. Neonatal thymectomy and the antibody
response to sheep erythrocytes in mice.
Int. Arch. Allergy 41, 873-882 (1971)
73. LESLIE, G.A., and
MARTIN, L.N. Studies on the secretory immunologic
system of fowl.
J. of Immunol. 110, 1 (1973)
74. LÖSCH, U., und
SCHUMACHER, H.J. Immunglobulin-M im Dottersackinhalt von
Hühnerküken.
3. Tagg. d. Gesellsch. f. Immunologie
11.-13. Okt. 1971, Abstrakta 1971

75. LÖSCH, U.,
FRIEDRICH, B., und
RIEDEL, G. Die Immunglobulingehalte keimfreier
Küken während der Konventionalisierung.
Z. Versuchstierk. 12, 58-67 (1970)
76. LODINOVA, R.,
TLASKALOVA, H.,
JOUJA, V., und
LANG, A. Die Entwicklung der Isoagglutinine bei
Kindern in den ersten Lebensmonaten und
die Beeinflussung ihrer Bildung durch
Besiedelung des Darmtraktes mit Echer-
ichia Coli-Stamm O 86.
Z. für Immunitätsforsch., Allergie u.
klin. Immunol. 13, 403-416 (1969)
77. MAJSKY, A., und
CALKOVSKA, Z. Nachweis eines agglutinierenden Faktors
gegen pronasierte Erythrozyten in
menschlichen Seren.
Z. Immun.-Forsch. 145, 219-226 (1973)
78. MERKENSCHLAGER, M. Aufzucht von Hunden unter keimfreien
Bedingungen.
Z. Versuchstierk. 11, 285-292 (1969)
79. MERKENSCHLAGER, M.,
LÖSCH, U.,
KIRCHNER, B.,
RIEDEL, G., und
GRUBER, F. Immunglobulingehalte im Serum junger,
gnotobiotischer Mastküken.
Z. für Tierphys., Tierernähr. u. Futter-
mittelkunde. 22, 337-349 (1967)
80. MEYER, R.C.,
BOHL, E.H., and
KÖHLER, E.M. Procurement and maintenance of germ-free
swine for microbiological investigations.
Appl. Microb. 12, 295-300 (1964)
81. MITVEDT, T., and
TRIPPETAD, A. Specificity of opsonic and bactericidal
response of gnotobiotic rat sera.
Acta path. microbiol. scand. Section 79,
291-296 (1971)

82. MICHAEL. Natural Antibodies.
Current topics of Immunology (1973)
83. MINDEN, P.,
MCCLATCHY, K.J., and
FARR, R.S. Shared antigens between heterologous
bacterial species.
Inf. and Immun. 6, 574-582 (1972)
84. MONDORF, W., und
KOLLMAR, M. Das quantitative Verhalten von IgA u.
IgM, sowie des Transferrins, Coeruloplas-
mins, α -Antitrypsins und des β A-Globulins
bei Normalpersonen im Verlaufe von
5 Monaten.
Klin. Wschr. 47, 1055 (1969)
85. MUKKUR, T.K.S. Valence and association constant of bovine
colostral immunoglobulin IgM.
Immunochem. 9, 1049-1055 (1972)
86. NAYAK, R., and
SIRSI, M. Specificity of natural heterohemagglutinins
of some laboratory animals.
Indian J. of Exp. Biol. 10, 362-364 (1972)
87. NOSSAL, G.J.V., and
MÄKELÄ, O. Kinetic studies on the incidence of
cells appearing to form two antibodies.
J. of Immunol. 88, 604 (1962)
88. NOSSAL, G.J.V. and
MÄKELÄ, O. Elaboration of antibodies by single
cells.
Ann. Rev. Microbiol. 16, 53 (1962)
89. PETZOLDT, U.,
DAMES, W.,
GOTTSCHEWSKI, G.H.M., und
NEUHOFF, V. Das Proteinmuster in frühen Entwick-
lungsstadien des Kaninchens.
Cytobiol. 5, 272-280 (1972)

90. PINK, R.,
WANG, A.CH., and
FUDENBERG, H.H. Antibody variability.
Annual Rev. of Med. Vol. 22 (1971)
91. PORTER, P. Porcine colostral IgA and IgM anti-
bodies to escherichia coli and their
intestinal absorption by the neonatal
piglet.
J. of Immunol. 17, 617 (1969)
92. PORTER, P., and
KENWORTHY, R. Effects of escherichia coli on germ-
free and gnotobiotic pigs.
J. Comp. Path. Vol. 80 (1970)
93. PORTER, P., and
NOAKES, D.E. Immunoglobulins in sow mammary secre-
tions throughout lactation and their
significance as Anti (escherichia coli)
antibodies to the young pig.
J. of Immunol. 113, 69 (1969)
94. PORTER, P.,
NOAKES, D.E., and
ALLEN, W.D. Secretory IgA and antibodies to escher-
ichia coli in porcine, colostrum and
milk and their significance in the
alimentary tract of the young pig.
J. of Immunol. 18, 245 (1970)
95. PORTER, P.,
NOAKES, D.E., and
ALLEN, W.D. Intestinal secretion of immunoglobulins
in the preruminant calf.
J. of Immunol. 23, 3 (1972)
96. PROKESOVA, L.,
REJNEK, J.,
STERZL, J., and
TRAVNICEK, J. Isolation and characterisation of
Immunoglobulins in the serum of pre-
colostral piglets.
Folia Microbiol. 14, 372-376 (1969)

105. SCHULZE, H.E., und
SCHWICK, G. Quantitative immunologische Bestimmung der Plasmaproteine.
Behringwerk-Mitt. 35, 57 (1958)
106. SCOOT, A.,
OWEN, B.D., and
AGAR, J.L. Influence of orally administered porcine immunoglobulins on survival and performance of newborn colostrum-deprived pigs.
J. of Anim. Science, 35, 6 (1972)
107. SHIRAI, T., and
MELLORS, R.C. Natural cytotoxic autoantibody against thymocytes in nzb mice.
Clin. and Exp. Immunol. 12, 1 (1972)
108. SJÖBERG, O.,
ANDERSSON, J., and
MÖLLER, G. Lipopolysaccharide can substitute for helper cells in the antibody response in vitro.
Europ. J. of Immunol. 2, 4 (1972)
109. SMITH, S.,
PILGRIM, H.J., and
STEINMÜLLER, D. The survival of skin allografts and xenografts in germ-free mice.
Transplantation, 13, 1 (1972)
110. SPIEGEL, A. Gnätobiotische, spezifiziert pathogenfreie und konventionelle Versuchstiere.
Dt. Tierärztl. Wschr. 3 (1968)
111. SPRINGER, G.F. Die Beziehung blutgruppenaktiver Substanzen zu Bakterien, höheren Pflanzen und Viren.
Immunchemie, Springer Verlag, Heidelberg 1965
112. SPRINGER, G.F., und
HORTON, R.E. Probleme keimfreien Lebens.
Immunchemie, Springer Verlag, Heidelberg 1965

113. STELZNER, A.,
KLINGER, G., und
SEEWALD, H.-J. Vergleichende Untersuchungen zum materno-
fetalen Transfer spezifischer Antikörper.
Z. Immun.-Forsch. 143, 393-405 (1972)
114. STERZL, J.
MANDEL, L.
MILLER, J., and
RIHA, J. Molekular and Cellular Basis of Anti-
body Formation.
Czech. Acad. Sci. Prague 1965
115. STOTT, D.I., and
FEINSTEIN, A. Biosynthesis and assembly of IgM free
thiol groups present on the intracellu-
lar subunits.
J. of Immunol. 3,4 (1973)
116. SURJAN, J. Studies on swine serum immunoglobulins.
Acta microbiol. Acad. Sci. hung. 16,
279-287 (1969)
117. SVEHAG, S.E.,
OLANDER, R., and
SUNDQVIST, K.G. Occurence and cross-reactivity of
heterophile antibodies and anti-kidney
antibodies in kidney transplanted
patients and patients with renal
disease.
Clin. and Exp. Immunol. 13, 2 (1973)
118. TANAKA, N., and
LEDUC, E.H. A study of the cellular distribution
of forssman antigen in various species.
Lit. Syst., May 1956
119. TAVERNOR, W.D.,
TREXLER, P.C.,
VAUGHAN, L.C., and
JONES, D.G.C. The production of gnotobiotic piglets
and calves by hysterotomy under
general anaesthesia.
Vet. Rec. 88, 10-14 (1971)

120. TLASKALOVA, H.,
KAMARYTOVA, V.,
MANDEL, L.,
PROKESOVA, L.,
KRUMML, J.,
LANC, A., and
MILER, I. The immune response of germ-free piglets after peroral monocontamination with living escherichia coli strain 086.
Folia Biol. (Praha) 16, 177-187 (1970)
121. TLASLALOVA, H.,
MEDLIN, J., and
STERZL, J. Ontogenetic development of antibody formation in response to different doses of gram-negative microorganismus in young rabbits.
Folia Microbiol. 14, 578-587 (1969)
122. TOMASI, T.B., and
KATZ, L. Human antibodies against bovine immunoglobulin M in IgA deficient sera.
Clin. exp. Immunol. 9, 3-10 (1971)
123. TOIVANEN, P.,
ROSSI, T., and
HIRVONEN, T. Immunoglobulins in human fetal sera at different stages of gestation.
Experientia (Basel) 25, 527 (1969)
124. TREXLER, P.C. Gnotobiotics in science and medicine.
Vet. Rec. Nov. 474-478 (1967)
125. TRIPPESTAD, A., and
MIDTVEDT, T. The phagocytic activity of polymorphonuclear leucocytes from germfree animals.
Acta path. microbiol. scand. Section 79, 519-522 (1971)
126. TYMPNER, K.D., und
NEUHAUS, F. Der IgM-Latex-Test.
Dtsch. med. Wschr. 97, 2003-2006 (1972)

127. TYMPNER, K.D.,
STRAUCH, L.,
MARGET, W., und
PATAT, I. Vergleichende quantitative Bestimmun-
gen der Immunglobuline IgG, IgA und IgM
in Seren von Kindern mit Antikörper-
Mangelsyndrom.
Monatsschr. Kinderheilk. 117,
278 (1969)
128. UHER, J.W., and
FINKELSTEIN. Immunoglobulin.
J. Exp. Med., 117, 457 (1963)
129. VERGANI, C.,
STABILINI, R., and
AGOSTONI, A. Quantitative determination of serum
immunoglobulins by single radial immu-
nodiffusion on cellulose acetate.
Immunochemistry 4, 233 (1967)
130. WASIELEWSKI, G., und
STRASSNER, H. Keimfreie Tiere.
Naturwiss. Rundschau, 23, 45-51 (1970)
131. WEEKE, B. Immunchemische Bestimmung von Albumin,
Transferrin, IgA und IgM im Serum.
Ugeskr. Laeger 131, 1423 (1969)
132. WELLMANN, G.G., und
REBLIN, L.E. Immunreaktionen von Schweinefeten.
Zbl. Bakt. Hyg. I Abt. Orig. A 222,
374-395 (1972)
133. WELLMANN, G.G.,
REBLIN, L.E., und
WORMUTH, H.J. Immunreaktionen von Schweinefeten.
Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 222,
357-373 (1972)
134. WILSON, M.R.,
BROWN, P., and
SVENDSEN, J. Immunity to escherichia coli in pigs:
antibody secretion by the mammary gland
after intramammary or intramuscular
vaccination with an e. coli vaccine.
Canad. J. of Comparative Medicine
36, 1 (1972)

135. WILSON, M.R., and SVENDSEN, J. Immunity to escherichia coli in pigs: serum gamma globulin levels, indirect hemagglutinating antibody titres and bactericidal activity against e. coli in pigs up to five weeks of age. Canad. J. of Comparative Medicine 36, 1 (1972)
136. WINTERHOFF, D., und KRAMANN, R. Immunglobuline γ G, γ A, und γ M im Serum von Schwangeren. Klin. Wschr. 48, 199 (1970)
137. WOOLSEY, M.E., and MANDY, W.J. A new serum factor in normal rabbits. J. of Immunol. 108, 4 (1972)
138. WOSTMANN, B.S., PLEASANTS, J.R., and BEALMEAR, P. Dietary stimulation of immune mechanismus. Feder. Proc. 30, 6 (1971)
139. WOSTMANN, B.S., PLEASANTS, J.R., BEALMEAR, P., and KINCADE, P.W. Serum proteins and lymphoid tissues in germ-free mice fed a chemically defined water soluble, low molecular weight diet. J. of Immunol. 19, 3 (1970)
140. YAGI, J., and PRESSMANN, D. Monoclonal IgA and IgM in the serum of a single patient. J. of Immunol. 110, 2 (1973)

Dank

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h. c. Walter Brendel bin ich für die Überlassung des Themas, die freundliche Betreuung und die Verfügungstellung eines Arbeitsplatzes in seinem Institut zu großem Dank verpflichtet.

Herrn Dr. med. Dr. med. vet. C. Hammer möchte ich für die zahlreichen Anregungen und Hilfen danken.

Ein besonderes Anliegen ist es für mich, diejenigen Herren fremder Institute zu erwähnen, die mich so großzügig unterstützten und dadurch viele Untersuchungen dieser Arbeit erst möglich machten:

Herrn Dr. med. vet. F. Gruber (Institut für Versuchstierkunde, Berlin, Direktor Prof. Dr. M. Merckenschlager) danke ich für die Bereitstellung der Seren keimfreier Hunde und anderer Tiere und das sicherlich sehr mühevollen Eingehen auf viele meiner Wünsche.

Herrn Dr. med. G. Ruckdeschel (Max v. Pettenkofer Institut für Hygiene und Med. Mikrobiologie, München, Direktor Prof. Dr. H. Eyer) danke ich für die Überlassung der Seren mit E. coli immunisierter Kaninchen, die bakteriologischen Arbeiten und den stets gewährten Rat.

Herrn Dr. med. vet. E. Sickel und Herrn Dr. med. vet. D. Gießen (SPF Ferkelzucht, Marbach) danke ich für Seren von SPF Ferkeln und die Aufzucht eines keimfreien Schweines.

Weiterhin bedanke ich mich bei Herrn R. Riemensperger (Moosmühle bei Freising) für die Möglichkeit, jederzeit Untersuchungen an konventionellen Ferkeln seiner Zuchten vornehmen zu können.

Außerdem danke ich den Tierpflegern, insbesondere Herrn Zahn, welche die mühevollen Haltung vieler Versuchstiere übernahmen.

Curriculum vitae

Manfred C.G. Hingerle geb. am 20. Dez. 1943 in München als erster Sohn des Schreinereibesitzers Willibald Hingerle und seiner Ehefrau Anneliese, geb. Dunkel

Schulbildung Volksschule in München 1949-1954
Staatl. Klenze Oberrealschule, München 1954-1960
Städt. Abendgymnasium, München, 1964-1968

Berufsausbildung Lehrausbildung zum Biologielaboranten bei der Pharm. Fabrik Dr. H. Haury 1960-1963
Berufsfachschule für Chemie- und Biologielaboranten 1960-1963
Abschluß: Gehilfenprüfung August 1963

Militärdienst Grundwehrdienst und Sonderausbildungen bei der ABC-Abwehr, Sonthofen im Allgäu und Sanitätskompanie, München, 1963-1965

Berufliche Tätigkeit Anstellung als Biologielaborant bei der Veterinär-Untersuchungsstelle, München, 1965-1968

Studium Ludwig - Maximilian - Universität München:
Studium der Tiermedizin 1968-1970,
Vorphysikum 1969, Physikum 1970
Zweitstudium der Biologie 1969-1975,
Vordiplom 1972, Diplomprüfung 1975 geplant
Studium der Humanmedizin 1970-1974,
Physikum 1971, Staatsexamen 1974,
Famulaturen an den Universitätskliniken für Gynäkologie, Innere und Chirurgie, 1973 u. 1974
Doktorand am Institut für Chirurgische Forschung, München, 1971-1974

